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

№ 1(42)/2015

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Дронова М. Л., Вринчану Н. О., Дудікова Д. М. Нові антибіотики хінолонового ряду: перспективи застосування в клінічній практиці 3

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Беленичев И. Ф., Литвиненко Е. С. Ферментативное и не ферментативное звено тиол-дисульфидной системы в головном мозге экспериментальных животных с церебральной ишемией: эффекты селеназы 13

Громов Л. О., Гончар-Чердаклі Л. Г., Ворожбит А. П., Тарнавська Л. С., Пішель В. Я., Ярош О. К. Експериментальне дослідження півкульної асиметрії антидепресивних ефектів амітриптиліну 19

Дейко Р. Д., Штриголь С. Ю., Колобов О. О., Міщенко О. Я. Корекція неврологічних і когнітивних порушень при церебральній ішемії оригінальними нейроактивними олігопептидами 24

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Дроговоз С. М., Дмитренко С. В., Штробля А. Л., Вашкеба-Бітлер Е. М. Хронофармакологічні особливості дії вольтарену 30

Загайко А. Л., Брюханова Т. А, Кочубей Ю. И., Мусмари М. А., Коваленко С. Н. Экспериментальное исследование фармакологической активности новых ингибиторов JNK 37

Калько Е. А., Дроговоз С. М., Иванцик Л. Б. Влияние циркадианных и сезонных биоритмов на активность ферментов цитолиза у интактных крыс 43

Клеванова В. С., Тржецинський С. Д., Жернова Г. О. Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba L.*) за умов дексаметазонового діабету в щурів 48

Лук'янчук В. Д., Сейфулліна І. Й., Шебалдова К. О., Марцинко О. Е. Дослідження актопротекторної активності нового антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3 після перенесеної гіпоксії замкнутого простору 53

Мосієнко В. С., Кущевська Н. Ф., Бурлака А. П., Шляховенко В. О., Лукін С. М., Куртсеїтов Л. К., Карнаушенко О. В., Вербиненко А. В. Дослідження протипухлинних властивостей феромагнітних наночастинок оксиду заліза та їхніх композитів на перещеплених пухлинах у мишей 59

Ніженковська І. В., Нароха В. П., Кузнецова О. В., Брюзгіна Т. С., Сейфулліна І. Й., Марцинко О. Е., Чебаненко О. А. Вплив нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів і гепатоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю..... 68

Рибак В. А., Малоштан Л. М., Полторак В. В., Красова Н. С. Вивчення антиоксидантних властивостей густого екстракту квасолі на моделі цукрового діабету 2 типу на тлі ожиріння в щурів..... 76

РОЗРОБКА НОВИХ МЕТОДИЧНИХ ПРИЙОМІВ

Гудзенко А. В. Розробка ВЕРХ методики визначення ізорамнетин-3-рутинозиду в лікарських засобах квіток нагідок лікарських (*Calendula officinalis L.*) 82

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Гребень Н. К. Ефективність лікування та реабілітації хворих на хоріоретинальні опіки ока..... 88

ОСОБИСТОСТІ

Памяти Платона Григорьевича Костюка. Слово об учителе..... 94

СОДЕРЖАНИЕ 99

CONTENT..... 100

м. Київ
Видавець: ТОВ «Видавничий дім «Авіцена», 2015 р.

© «Фармакологія та лікарська токсикологія», 2015 р.
© ВД «Авіцена», 2015 р.

УДК 615.281:577.182.99

М. Л. Дронова, Н. О. Вринчану, Д. М. Дудікова

Нові антибіотики хінолонового ряду: перспективи застосування в клінічній практиці

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

Ключові слова: антибіотики, хінолони/фторхінолони, антимікробна активність

Триваюче зростання кількості резистентних до дії антибактеріальних засобів штамів мікроорганізмів потребує впровадження в клінічну практику нових безпечних і ефективних препаратів. Пошук нових сполук здійснюється серед нових хімічних класів, які впливають на нові або відомі мішені дії, та серед нових сполук відомих класів, які впливають на відомі мішені. Синтез нових сполук серед нових хімічних класів є ризикованим і витратним, потребує ідентифікації діючих речовин у разі встановлення такого виду активності. На перших етапах досліджень він є емпіричним, після встановлення залежності активності від хімічної структури можливий цілеспрямований синтез сполук з антимікробною дією.

Мета дослідження – представити сучасний стан проблеми пошуку антибактеріальних сполук синтетичного походження серед хімічних структур, що як діючі речовини використовуються в сучасних антимікробних засобах.

Пошук сполук з антимікробною активністю здійснюється серед хінолонів, аміноглікозидів, макролідів, оксазолідинонів, тетрациклінів, плевромутилінів, діазабіциклооктанів, глікопептидів, поліміксинів та циклічних ліпопептидів. Препарати різних класів відрізняються за спектром дії, фармакокінетичними показниками та механізмом інгібуючого ефекту, який забезпечує бактерицидну або бактеріостатичну активність.

Перспективним класом для пошуку нових сполук є хінолони. Клас хінолонів включає дві основні групи препаратів, які відрізняються за структурою, активністю, фармакокінетикою та широтою показань до застосування: нефторовані хінолони та фторхінолони.

Хінолони використовуються в клінічній практиці з 60-х років минулого століття, за механізмом дії принципово відрізняються від інших антимікробних препаратів, що забезпечує їхню активність відносно резистентних, у тому числі полірезистентних штамів мікроорганізмів.

Хінолони I покоління (налідиксова кислота, оксолінова кислота, піпемідинова кислота) переважно активні відносно грамнегативної мікрофлори. Спектр активності нефторованих хінолонів включає бактерії родини *Enterobacteriaceae* (*E. coli, Enterobacter spp., Proteus spp., Klebsiella spp., Shigella spp., Salmonella spp.*), а також *Haemophillus spp.* та *Neisseria spp.*

Фторхінолони мають дозвіл для медичного застосування з 80-х років минулого століття (II покоління), за спектром активності відрізняються від хінолонів – препарати проявляють активність як відносно грамнегативної мікрофлори, так і відносно стафілококів. Спектр активності фторхінолонів включає грампозитивні аеробні бактерії (*Staphylococcus spp.*) та більшість штамів грамнегативних мікроорганізмів, у тому числі *E. coli, Shigella spp., Salmonella spp., Enterobacter spp., Klebsiella spp., Proteus spp., Serratia spp., Providencia spp., Citrobacter spp., M.morganii, Vibrio spp., Haemophilus spp., Neisseria spp., Pasteurella spp., Pseudomonas spp., Legionella spp., Brucella spp., Listeria spp.* Фторхінолони розподілені на три групи: фторхінолони II покоління (ломефлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, ципрофлоксацин), III покоління (левофлоксацин, спарфлоксацин) та IV покоління (моксифлоксацин). Хінолони/фторхінолони проявляють бактери-

© Колектив авторів, 2015

цидний ефект, інгібують ДНК-гіразу та топоізомеразу IV, порушуючи синтез ДНК [1, 2].

Не дивлячись на специфічну бактерицидну дію, до препаратів хінолонового/фторхінолонового класу, як і до інших антимікробних засобів, утворилися стійкі штами збудників. Провідним механізмом стійкості до хінолонів/фторхінолонів є модифікація мішеней – ДНК-гірази та топоізомерази IV, які опосередковують конформаційні зміни в молекулі бактеріальної ДНК, необхідні для її реплікації. Гени обох ферментів локалізовані на бактеріальній хромосомі. Основним механізмом стійкості до хінолонів є зміна структури топоізомераз унаслідок мутацій у відповідних генах та амінокислотних замін у молекулах ферментів. Після виникнення та селекції мутацій у генах ферменту, який є первинною мішенню дії хінолонів, МІК препаратів підвищується в 4–8 разів. Зростає роль стійкості мікроорганізмів до хінолонів/фторхінолонів, зумовленої активним виведенням препарату з мікробної клітини. У штамів з високим рівнем резистентності до фторхінолонів цей механізм часто поєднується з модифікацією мішеней [1].

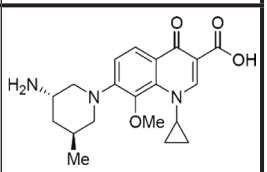
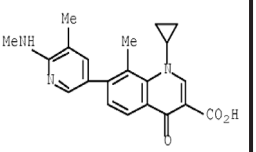
Виникнення та поширення резистентних штамів мікроорганізмів потребує пошуку сполук з виразною антибактеріальною дією з метою розробки на їхній основі нових безпечних та ефективних лікарських препаратів.

Сьогодні на етапі доклінічних та клінічних досліджень знаходяться 13 сполук та препаратів: 3 сполуки – на етапі доклінічних досліджень, 10 препаратів – на етапі клінічних випробувань.

Одним із представників нефторованих хінолонів (табл. 1) є немоноксацин (Taigexin®) фармацевтичної компанії «TaiGen Biotechnology» – новий нефторований хінолон з широким спектром дії, який включає грампозитивні та грамнегативні бактерії. Порівняно з ципрофлоксацином, левофлоксацином та моксифлоксацином немоноксацин *in vitro* виявляє більш виразну активність відносно грампозитивних бактерій, у тому числі метицилінрезистентного *Staphylococcus aureus* (*MRSA*) та мультирезистентного *Streptococcus pneumonia* (*MRSP*). Активність проти більшості грамнегативних бактерій є подібною до левофлоксацину та моксифлоксацину. До дії немоноксацину виявляють чутливість *Mycoplasma pneumoniae*,

Таблиця 1

Нові антимікробні засоби – хінолони

Сполука, препарат	Фірма-розробник	Етап дослідження	Спектр активності	Хімічна структура
Немоноксацин	«TaiGen Biotechnology» (Тайвань)	Фаза III (хворі з синдромом діабетичної стопи)	Грам (–), грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA, VRE, MRSP*	
Озеноксацин	«Ferrer Internacional» (Іспанія)	Фаза III1 (завершена); Фаза III2 (2014–2015 рр.)	Грам (+) бактерії, *MRSA, MRSE*	
KRP-AM1977X (таблетки)	«Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd» (Японія»)	Фаза II	Грам (+) бактерії	н/д
KRP-AM1977Y (розчин для ін'єкцій)	«Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd», (Японія)	Фаза I	Грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA*	н/д

Примітка. VRE (vancomycin-resistant Enterococcus) – ванкоміцин-резистентний ентерокок, н/д – немає даних.

Legionella pneumophila, а також Chlamydia pneumoniae [3]. Ефективність та безпечність немоноксацину доведена порівняльними клінічними дослідженнями (фази I–III) у хворих з позалікарняною пневмонією (NCT00434291; TG-873870; NCT01537250, фаза II; NCT01529476, фаза III) [4–6]. При дослідженні ефективності препарату (750 і 500 мг упродовж 7 днів перорально) встановлено, що клінічна та мікробіологічна активність немоноксацину виявилася більш виразною порівняно з левофлоксацином. Не виявлено достовірних відмінностей у кількості обумовлених прийомом препарату побічних реакцій. Однак при застосуванні немоноксацину частіше спостерігали такі побічні ефекти, як діарея, дратівливість та головний біль. Нині завершена II фаза (NCT00685698) клінічних випробувань немоноксацину у хворих з синдромом діабетичної стопи [7]. Дослідження фармакокінетики немоноксацину показало, що при застосуванні препарату в дозі 500 мг C_{max} препарату складає 3,5–5,0 мг/л, AUC – 32 мг·год/л, зв'язування з білками – 16,0 %, $T_{1/2}$ – 10–15 год [2]. У 2013 році FDA прийняла рішення щодо прискореної реєстрації немоноксацину для терапії пацієнтів з позалікарняною пневмонією, а також з гострими інфекційними захворюваннями шкіри та м'яких тканин [8, 9].

Перспективним препаратом нефторованих хінолонів є озеноксацин (фармацевтична компанія «Ferrer Internacional»), який *in vitro* виявляє активність відносно MRSA та метицилінрезистентного епідермального стафілококу (MRSE). Ефективність озеноксацину при місцевому застосуванні доведена клінічним дослідженням фази III1 у пацієнтів з імпетиго. Підтвердженням доцільності впровадження препарату в клінічну практику є результати випробувань за участю 465 дорослих та дітей віком від 2 років, які страждають на імпетиго. Дослідження проведені в 27 центрах США, Південної Африки, Німеччини, Румунії та України [10, 11]. Дослідження завершені в 2013 році.

Випробування підтвердили ефективність 1 % крему при застосуванні два рази на один день упродовж п'яти днів. Встановлено, що озеноксацин є безпечним, добре переноситься як дорослими, так і дітьми. Сьогодні клінічні випробування препарату (фаза III2, NCT02090764, 2014–2015 рр.) тривають [12]. Окрім цього, досліджується ефективність та безпечність препарату в концентрації 2 %. Сьогодні встановлена безпечність препарату 2 % крему при нанесенні на шкіру здоровим добровольцям [13].

На етапі клінічних досліджень знаходиться нефторований хінолон – KRP-AM1977 (фармацевтична компанія «Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd», Японія). Сполука виявляє антимікробну дію відносно грампозитивних бактерій, механізм антибактеріального ефекту зумовлений порушенням реплікації ДНК.

Нині ефективність KRP-AM197 оцінюється в клінічних умовах у пацієнтів з респіраторними інфекціями – пероральна форма препарату (KRP-AM1977X), при інфекціях обумовлених MRSA – парентеральна (KRP-AM1977Y) [8, 14].

У клінічних випробуваннях (фаза I) встановлені фармакокінетичні показники KRP-AM1977X та заплановані дослідження щодо ефективності та безпечності KRP-AM1977X (фаза II, JPRN-JapicCTI-142618; JapicCTI-132275) у пацієнтів з пневмонією, зумовленою збудниками інфекцій респіраторного тракту (у тому числі *Mycoplasma pneumonia*, *Chlamydia pneumonia* та *Legionella pneumonia*) при пероральному застосуванні в дозах 75 мг або 15 мг [15]. Тривають дослідження з вивчення фармакокінетики парентеральної лікарської форми препарату [16].

Серед фторованих хінолонів на етапі доклінічних та клінічних випробувань знаходяться: забофлоксацин, аварофлоксацин, фінафлоксацин, левонадифлоксацин (табл. 2).

На етапі клінічних досліджень з встановлення ефективності при хронічних обструктивних захворюваннях легень (ХОЗЛ) (III фаза) знаходиться забофлоксацин – антибіотик широкого спектра дії. Препарат проявляє виразну дію відносно чутливих та резистентних до хінолонів штамів

Streptococcus pneumonia та *Neisseria gonorrhoeae*. [4, 5]. Встановлено, що механізм інгібуючої дії зумовлений впливом на бактеріальну топоізомеразу II та топоізомеразу IV. У фазі I клінічних випробувань (NCT0134124) за участю здорових добровольців досліджено фармакокінетичні показники при одноразовому застосуванні в дозі 400 мг (DW224a – капсули, DW224aa – таблетки), у фазі II (подвійне сліпе клінічне дослідження порівняно з левофлоксацином та подвійне сліпе рандомізоване багатоцентрове дослідження порівняно з моксифлоксацином) – ефективність та безпечність у хворих з позалікарняною пневмонією [8, 14]. Встановлено, що клінічна ефективність забофлоксацину в пацієнтів з позалікарняною пневмонією відповідає такій препаратів порівняння. При пероральному застосуванні в дозі 400 мг Cmax препарату складає 20 мг/л, AUC – 11 мг·год/л [2].

У клінічних випробуваннях доведено доцільність застосування забофлоксацину у хворих з обструктивними захворюваннями легень (фаза III, DW224, NCT01658020). Дослідження завершене в жовтні 2014 року, результати випробування ще не опубліковані [8, 18, 19].

Фторованим хінолоном є делафлоксацин (WQ-3034), розроблений фармацевтичною компанією «Rib-X Pharmaceuticals» (США) [8, 20]. Препарат характеризується більш виразною активністю порівняно з іншими хінолонами відносно грампозитивних мікроорганізмів. До дії препарату чутливі MRSA та грамнегативні бактерії, у тому числі біоплівкові форми *S. aureus*. У біоплівці, сформованій золотистим стафілококом, виявляється близько 52 % препарату [21], що свідчить про його значну проникність у біоплівку та перспективність застосування делафлоксацину при захворюваннях, обумовлених біоплівковими формами бактерій. При порівняльній оцінці активності препарату встановлено, що інгібуюча дія делафлоксацину відносно грамнегативних бактерій відповідає такій ципрофлоксацину. Встановлено, що на антибактеріальні властивості препарату впливає pH середовища. Так, зниження pH супроводжується менш виразною антибактеріальною активністю на відміну від інших хінолонів, зокрема ципрофлоксацину та моксифлоксацину, МІК яких зростає зі зниженням pH.

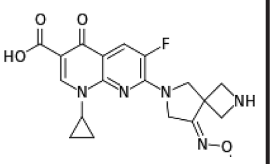
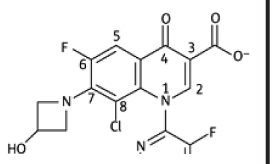
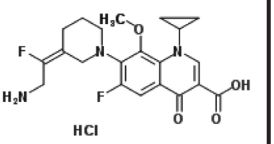
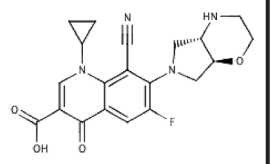
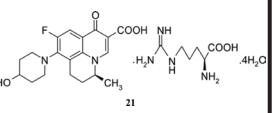
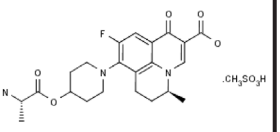
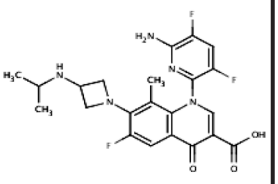
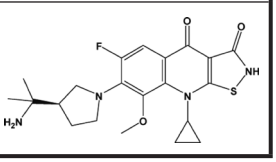
У клінічних дослідженнях з визначення фармакокінетики делафлоксацину (300 мг) встановлено, що C_{max} препарату складає 10 мг/л, AUC – 24 мг·год/л, зв'язування з білками – 16 %, $T_{1/2}$ – 8–12 год [2]. Ефективність препарату при госпітальній пневмонії, абдомінальних інфекціях та інфекціях урогенітального тракту доведена в клінічних випробуваннях (NCT00719810, фаза II, 300 мг або 450 мг, 2008 р.; NCT01283581, фаза II, 300 мг, 2011 р.). Заплановані дослідження фази III клінічних випробувань: NCT02015637 та NCT011732 у пацієнтів з гострими інфекціями шкіри та м'яких тканин, а також у хворих з інфекційними процесами урогенітального тракту, зумовленими *Neisseria gonorrhoeae* [2, 22].

Перспективними фторхінолонами є аварофлоксацин (фармацевтична компанія «Furiex Pharmaceuticals»), фінафлоксацин (фармацевтична компанія «MerLion Pharmaceuticals») та WCK 2349 (фармацевтична компанія «Wockhardt»).

Аварофлоксацин (JNJ-Q2, «Furiex Pharmaceuticals», США) є антибіотиком широкого спектра дії з виразною активністю відносно грампозитивних бактерій, включаючи фторхінолонрезистентні MRSA, полірезистентні штами *Streptococcus pneumoniae*, атипові збудники захворювань органів дихання, зокрема легіонели та мікоплазми, а також анаеробні бактерії. Активність відносно грамнегативних бактерій еквівалентна такій моксифлоксацину [23, 24]. Механізм дії аварофлоксацину зумовлений впливом на топоізомеразу II (ДНК-гіразу) та топоізомеразу IV. Особливості механізму дії, а саме інгібуюча активність відносно обох ферментів буде стримувати формування резистентності бактерій до дії цього антимікробного препарату [8, 20]. Ефективність препарату доведена клінічними випробуваннями (II фаза, 2012, NCT01128530) за участю пацієнтів з ускладненими інфекціями шкіри

Таблиця 2

Нові антимікробні засоби – фторхінолони

Сполука, препарат	Фірма-розробник	Етап дослідження	Спектр активності	Хімічна структура
Забофлоксацин	«Dong Wha Pharmaceutical» (Південна Корея)	Фаза III1 (завершена)	Широкий спектр, у тому числі *MRSA*, *S. pneumonia, N. gonorrhoeae, C. trachomatis*	
Делафлоксацин	«Rib-X Pharmaceuticals» (США)	Фаза III	Грам (–), Грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA*	
Аваро-флоксацин	«Furiex «Pharmaceuticals» (США)	Фаза II (завершена)	Грам (–), Грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA*, *Legionella spp., Mycoplasma spp.*	
Фінафлоксацин	«MerLion «Pharmaceuticals» (Сінгапур)	Фаза II (завершена)	Грам (–), Грам (+) бактерії, у тому числі *H. pylori.* Активний у кислому середовищі	
Левонадифлоксацин	«Wockhardt» (Індія)	Фаза II	Грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA*, анаероби	
WCK 2349	«Wockhardt» (Індія)	Фаза II	Грам (–), Грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA*	
DS-8587	«Daiichi Sankyo Co., Ltd.» (Японія)	Фаза I	Грам (–), Грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA*, анаероби, *Acinetobacter baumannii*	
KPI-10 (WQ-3810)	Wakunaga Pharmaceutical (Японія)	Доклінічні дослідження	Грам (–), Грам (+) бактерії, у тому числі MDR	н/д
WCK-4086	«Wockhardt» (Індія)	Доклінічні дослідження	Грам (+) бактерії, у тому числі *MRSA, VRSA, VRE*	

Примітка. MDR (multidrug resistance) – полірезистентні штами мікроорганізмів, н/д – немає даних.

та м'яких тканин (250 мг 2 рази на один день), а також з позалікарняною пневмонією [2, 8].

Фінафлоксацин – новий фторхінолоновий антибіотик, розроблений компанією «MerLion Pharmaceuticals», Сингапур). За умови нейтрального pH (pH 7,2–7,4) активність препарату еквівалентна ципрофлоксацину. Однак за pH 5,8 спостерігають підвищення антибактеріальної активності, на відміну від інших фторхінолонів, зокрема від ципрофлоксацину, левофлоксацину та моксифлоксацину, активність яких при цьому значенні pH знижується. Такі особливості препарату дають можливість застосовувати фінафлоксацин при інфекціях сечових шляхів [8, 25]. До дії нового препарату чутливі внутрішньоклітинні мікроорганізми та анаеробні бактерії.

Безпечність фінафлоксацину доведена в клінічному дослідженні I фази за участю здорових добровольців (одноразове застосування в дозах 25–800 мг упродовж 7 днів та багаторазове застосування в дозах 150–800 мг), залежність «доза – ефект» та фармакокінетичні особливості – у дозі 800 мг/доба впродовж 3 діб [26]. У досліджуваних відмічали головний біль, нудоту, діарею, втому та підвищення внутрішньочерепного тиску.

Ефективність фінафлоксацину досліджена в пацієнтів з інфекціями, зумовленими *Helicobacter pylori* (NCN00723502, фаза II, 400 мг у комбінації з амоксициліном або омепразолом) та в пацієнтів, які страждають на пієлонефрит (NCN00722735, фаза 2, 300 мг). Встановлено, що профіль активності відповідає такому ципрофлоксацину. Нині здійснюється дослідження NCN01928433 щодо встановлення ефективності дози препарату 800 мг [2, 8]. FDA у 2014 році дозволило застосування фінафлоксацину в ЛОР-практиці для лікування гострого отиту, викликаного *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*.

На різних етапах доклінічних та клінічних досліджень знаходяться похідні фторхінолонів: сполуки WCK 2349, DS-8587, KPI-10, ACH-702, WCK-4086 [27].

WCK 2349 – фторвмісна сполука, яка досліджується для встановлення доцільності створення на її основі антимікробного засобу для лікування пацієнтів з інфекційними захворюваннями шкіри та м'яких тканин, а також інфекціями респіраторного тракту.

У червні 2013 року завершена фаза II клінічних випробувань WCK 2349 (таблетки) з визначення ефективності та переносимості препарату в пацієнтів з ускладненими інфекціями шкіри та м'яких тканин, зумовленими грампозитивними мікроорганізмами (у тому числі MRSA), а також з інфекціями респіраторного тракту. У 2014 році проведене випробування щодо кардіотоксичності субтерапевтичної та максимальної дози препарату при одноразовому застосуванні. Отримані результати ще не опубліковані.

У 2014 році розпочате дослідження фармакокінетики WCK 2349 при пероральному застосуванні в дозі 1000 мг у пацієнтів з порушенням функції печінки, зокрема у хворих на цироз печінки [8, 28]. У дослідженні беруть участь і здорові дорослі добровольці з метою визначення концентрації препарату в плазмі крові та легенях при застосуванні в дозі 1000 мг [29].

WCK 771 – левонадифлоксацин (проліки WCK-2349), похідне надифлоксацину для парентерального застосування виробництва компанії «Wockhardt» (Індія) з покращеною антибактеріальною активністю відносно хінолонрезистентних стафілококів, особливо *MRSA*. WCK 771 є активнішим за левофлоксацин відносно *S. pneumoniae*, проявляє виразну інгібуючу дію відносно анаеробних бактерій [30, 31].

Сьогодні завершені доклінічні дослідження специфічної дії, токсичності та безпечності сполуки WCK 4086 (пероральна та ін'єкційна лікарська форми). Встановлена виразна активність WCK 4086 відносно *MRSA, VRSA, VRE* та інших мікроорганізмів.

Фторхінолоном з широким спектром дії є сполука DS-8587 (фармацевтична компанія «Daiichi Sankyo Co., Ltd.», Японія). До дії сполуки чутливі мультирезистентні штами *Acinetobacter baumannii*, стрептококи, стафілококи,

ентерококи, кишкова паличка та анаеробні бактерії [30, 32–35]. Мішенню дії є ДНК-гіраза та топоізомераза IV. Фармакодинамічний та фармакокінетичний профіль DS-8587 досліджено на тваринах з мікст-інфекцією та пневмонією, зумовленою грампозитивними та грамнегативними мікроорганізмами.

При дослідженні фармакокінетичних показників у людини встановлено, що AUC у плазмі людини складає 20–40 мкг·год/мл. [33].

Натепер у I фазі клінічних випробувань вивчається безпечність сполуки DS-8587 [36]. У доклінічних випробуваннях встановлюється спектр дії сполуки ACH-702 – представника нового підкласу хінолонів – ізотіазохінолонів [37]. До дії сполуки виявили чутливість штами мультирезистентного туберкульозу – *Mycobacterium tuberculosis*. Сполука активна відносно багатьох інших антибіотикорезистентних штамів збудників, у тому числі *MRSA* [38] та біоплівкових форм бактерій [39].

У клінічних випробуваннях встановлюється ефективність та безпечність сполуки фторхінолонового ряду – KPI-10. Сполука *in vitro* та *in vivo* проявляє виразну активність відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій: *S. pneumoniae*, *Staphylococcus spp*. (у тому числі *MRSA*), *E. coli, Acinetobacter spp.,* включаючи полірезистентні та фторхінолонрезистентні штами збудників [40]. Особливістю KPI-10 є виразна дія проти грамнегативних бактерій *E. coli* та *Klebsiella pneumoniae*. До дії сполуки виявили чутливість більше ніж 600 ізолятів *Enterobacteriaceae*, МІК – у 2–3 рази нижче ніж в левофлоксацину, ципрофлоксацину, гатифлоксацину та моксифлоксацину. Сполука за активністю відносно грампозитивних бактерій (*MSSA, MRSA* та *Enterococcus faecalis,* у тому числі хінолонрезистентних штамів) переважає зазначені антибактеріальні препарати [41]. Клінічні випробування, проведені за участю здорових добровольців (фаза I), довели безпечність KPI-10 при одноразовому щоденному застосуванні, а фармакокінетичний профіль свідчить про можливість одноразового застосування при інфекційних процесах.

Встановлено специфічну антибактеріальну дію сполуки фторхінолонового ряду WCK-4086, яка характеризується виразною інгібуючою активністю відносно грампозитивних бактерій, у тому числі відносно *VRE* та *MRSA* [42].

На увагу заслуговують і сполуки гібридної конструкції, що включають молекулу хінолону та інші препарати. Так, перспективною може бути комбінація рифампіцину та сполуки хінолонового ряду CBR-2092 (фармацевтична компанія «2M BioTech L.P.»). CBR-2092 впливає на синтез РНК у рифампіцинчутливих штамів (дія рифампіцину) та на синтез ДНК у рифампіцинстійких штамів (вплив хінолону). Препарат, розроблений на основі сполуки CBR-2092, може застосовуватись як монотерапія для лікування пацієнтів з персистуючою інфекцією, зумовленою *S. aureus* [15, 43].

Висновки

Представлена інформація щодо антимікробної активності хінолонів/фторхінолонів свідчить про ефективність препаратів цього класу при захворюваннях інфекційного генезу, а також про доцільність подальшого пошуку активних сполук серед хінолонів/фторхінолонів з метою розробки нових ефективних та безпечних антимікробних препаратів для боротьби зі зростаючою полірезистентністю збудників.

1. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / [под ред. Л. С.Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова]. – М., 2002. – 375 с.
2. *Van Bambeke F.* Renaissance of antibiotics against difficult infections: Focus on oritavancin and new ketolides and quinolones / Van Bambeke F. // Ann Med. – 2014. – V. 46, № 7. – P. 512–529.
3. *Chotikanatis K. In Vitro* activity of Nemonoxacin, a novel nonfluorinated quinolone antibiotic, against Chlamydia trachomatis and Chlamydia pneumoniae / Chotikanatis K., Kohlhoff S. A., Hammerschlag M. R. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2014. – V. 58, № 3. – P. 1800–1801.
4. Phase II Clinical Study to Assess the Efficacy and Safety of Nemonoxacin Malate in Treating Adult Patients With Community-acquired Pneumonia (CAP) // https://clinicaltrials.gov/show/NCT01537250
5. Study to evaluate the efficacy and safety of oral administration with Nemonoxacin and Levofloxacin in patients with CAP // https://clinicaltrials.gov/ ct2/show/NCT01529476

6. Comparative *In Vitro* activities of Nemonoxacin (TG-873870), a novel Nonfluorinated quinolone and other quinolones against clinical isolates / Lauderdale T. L., Shiau Y. R., Lai J. F. [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2010. – V. 54, № 3. – P. 1338–1342.
7. Safety and efficacy study of TG-873870 (Nemonoxacin) in diabetic foot infections // http://clinicaltrials.globe24h.com/0/0/bacterial-and-fungal-diseases/f/focal-infection/2008/05/22/nct00685698-safety-and-efficacy-study-of-tg-873870-nemonoxacin-in-diabetic-foot-infections-taigen-biotechnology-co-ltd.shtml
8. *De Souza Mendes C. U.* Pipeline of known chemical classes of antibiotics / De Souza Mendes C. U., De Souza Antunes A. M. // Antibiotics. – 2013. – № 2. – P. 500–534.
9. Nemonoxacin (TG-873870) for treatment of community-acquired pneumonia / Lai C. C., Lee K. Y., Lin S. W. [et al.] // Expert review of anti-infective therapy. – 2014. – V. 12, № 4. – P. 401–417.
10. Efficacy and safety of Ozenoxacin 1 % cream versus placebo in the treatment of patients with impetigo // https://www.clinicaltrials.gov/ ct2/results?term=Ozenoxacin&Search=Search
11. Ozenoxacin 1% cream in the treatment of impetigo: a multicenter, randomized, placebo- and retapamulin-controlled clinical trials / Gropper S., Albareda N., Chelius K. [et al.] // Future Microbiol. – 2014. – V. 9, № 9. – P. 1013–1023.
12. Efficacy and safety of Ozenoxacin 1 % cream versus placebo in the treatment of patients with impetigo // https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/ NCT02090764?term=Ozenoxacin&rank=2
13. Skin tissue exposure of once-versus twice-daily topical ozenoxacin 2 % cream: a Phase I study in healthy volunteers / Gropper S., Albareda N., Santos B. [et al.] // Future Microbiol. – 2014. – V. 9, № 8. – P. 17–22.
14. Status of R&D Pipeline 2010 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.kyorin-gr.co.jp/en/ir/pdf/201103event-rd-pipeline.pdf
15. *Karpiuk I*. Poszukiwanie nowych preparatow do terapii przeciwbakteryjnej. Nowe chemioterapeutyki przeciwbakteryjne z grupy chinolonow w badaniach klinicznych / Karpiuk I., Tyski S. // Przegl epidemiol. – 2013. – V. 67. – P. 557–561.
16. Status of R&D Pipeline 2012 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.kyorin-gr.co.jp/en/ir/pdf/2012_RDP.pdf
17. JAPIC Clinical Trials Information // http://www.clinicaltrials.jp/user/ showCteDetailE.jsp?japicId=JapicCTI-132275
18. Внебольничная пневмония. Современные подходы к антибактериальной терапии [Електронний ресурс] / В. Б. Белобородов. – http://www.rmj.ru/articles_9289.htm
19. A study to evaluate efficacy and safety profile of Zabofloxacin tablet 400 mg and Moxifloxacin tablet 400 mg (DW224-III-3) // https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01658020
20. *Marinelli F.* Antimicrobials: new and old molecules in the fight against multi-resistant / Marinelli F. Genilloud O. – Berlin – Springer-Verlag, 2014. – 364 p.
21. Comparison of the antibiotic activities of Daptomycin, Vancomycin, and the investigational Fluoroquinolone Delafloxacin against biofilms from *Staphylococcus aureus* clinical isolates / Siala W., Mingeot-Leclercq M. P., Tulkens P.M. [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2014. – V. 58, № 11. – P. 6385–6397.
22. Melinta therapeutics. Delafloxacin // http://melinta.com/delafloxacin.php
23. *Paknikar S. S*. Newer Antibacterials in Therapy and Clinical Trials / Paknikar S. S., Narayana S. // N Am J Med Sci. – 2012. – V. 4, № 11. – P. 537–547.
24. Efficacy of a new fluoroquinolone, JNJ-Q2, in murine models of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* skin, respiratory, and systemic infections / Fernandez J., Hilliard J. J., Morrow B. J. [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2011. – V. 55, № 12. – P. 5522–5528.
25. *In Vitro* spectrum of activity of Finafloxacin, a novel, pH-activated fluoroquinolone, under standard and acidic conditions / Stubbings W., Leow P., Yong G. C. [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2011. – V. 55, № 9. – P. 4394–4397.
26. Human pharmacokinetics and safety profile of Finafloxacin, a new Fluoroquinolone antibiotic, in healthy volunteers / Patel H., Andresen A., Vente A. [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2011. – V. 55, № 9. – P. 4386–4393.
27. Compounds in, or that have recently completed, phase-II clinical trials // http://www.nature.com/ja/journal/v66/n10/fig_tab/ja201386t3.html - t3-fn2
28. Pharmacokinetics of WCK 2349 In patients with hepatic impairment // https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02244827
29. Study to determine and compare plasma and intrapulmonary pharmacokinetics of WCK 2349 in healthy adult human subjects // http://clinicaltrialsfeeds.org/clinical-trials/show/NCT02253342
30. Antibiotic and Chemotherapy [Електронний ресурс] / Finch R. G. [et al.]. – Режим доступу: https://books.google.com.ua/books?id= DE4Mxc3aesEC&pg=PT1628&lpg=PT1628&dq=WCK+2349&source=bl&ots=d7G-vQHk3k&sig=U7OyMSm2VfnQwxqEztICiD53B8k&hl=ru&sa=X&ei= lQmrVPb4K6f9ywPT0YHABA&ved=0CCwQ6AEwAjgo#v=onepage&q=WCK%202349&f=false
31. *Peric M*. Antianaerobic activity of a novel fluoroquinolone, WCK 771, compared to those of nine other agent / Peric M., Jacobs M. R., Appelbaum P. C. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2004. – V. 48. – P. 3188–3192.

32. Anti-multidrug-resistant Acinetobacter baumannii activity of DS-8587: *In vitro* activity and *in vivo* efficacy in a murine calf muscle infection model / Higuchi S., Kurosaka Y., Uoyama S. // J Infect Chemother. – 2014. – V. 20, № 5. – P. 312–316.
33. Potent *in vitro* antibacterial activity of DS-8587, a novel broad-spectrum quinolone, against Acinetobacter baumannii / Higuchi S., Onodera Y., Chiba M. [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2013. – V. 57, № 4. – P. 1978–1981.
34. DS-8587, a new generation of broad spectrum quinolone: pharmacodynamic and therapeutic efficacy in animal infection models [Електронний ресурс] / Kurosaka Y. [et al.]. – Режим доступу: http://www.icaaconline.com/ php/icaac2013abstracts/data/papers/2012/F/2012_F-2035.htm
35. *Pucci M. J*. Investigational Antimicrobial Agents of 2013 / Pucci M. J., Bush K. // Clin Microbiol Rev. – 2013. – V. 26, № 4. – P. 792–821.
36. Major R&D Pipeline. – Режим доступу: http://www.daiichisankyo.com/rd/pipeline/pdf/20130131_Pipeline_EN1.pdf
37. Intracellular activity of tedizolid phosphate and ACH-702 versus Mycobacterium tuberculosis infected macrophages [Електронний ресурс] / Molina-Torres C. A. [et al.]. – Режим доступу: http://www.ann-clinmicrob.com/content/13/1/13
38. I*n vitro* and *in vivo* profiles of ACH-702, an isothiazoloquinolone, against bacterial pathogens / Pucci M. J., Podos S. D., Thanassi J. A. [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2011. – V. 55, № 6. – P. 2860–2871.
39. Bactericidal activity of ACH-702 against nondividing and biofilm Staphylococci / Podos S. D., Thanassi J. A., Leggio M. [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2012. – V. 56, № 7. – P. 3812–3818.
40. Kalidex Introduces Novel Fluoroquinolone, KPI-10, at the 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) // http://www.prnewswire.com/news-releases/kalidex-introduces-novel-fluoroquinolone-kpi-10-at-the-52nd-interscience-conference-on-antimicrobial-agents-and-chemotherapy-icaac-168871396.html
41. *In vitro* activity of KPI-10 against clinically important Gram-negative bacteria [Електронний ресурс] / Simenauer D. J. [et al.]. – Режим доступу: http://www.eurofins.in/media/4666384/f2047%20kpi10%20poster.pdf
42. Workhardt. New drug discovery // http://www.wockhardt.com/how-we-touch-lives/new-drug-discover.aspx
43. *In vitro* evaluation of CBR-2092, a novel rifamycin-quinolone hybrid antibiotic: studies of the mode of action in Staphylococcus aureus / Robertson G. T., Bonventre E. J., Doyle T. B. [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2008. – V. 52, № 7. – P. 2313–2323.

М. Л. Дронова, Н. О. Вринчану, Д. М. Дудікова

Нові антибіотики хінолонового ряду: перспективи застосування в клінічній практиці

Огляд літератури узагальнює дані щодо розробки нових препаратів класу хінолонів. Нині три представники цього класу знаходяться на етапі доклінічних досліджень, 10 препаратів – на етапі клінічних випробувань.

Нові сполуки класу нефторованих хінолонів (немоноксацин, озеноксацин та KRP-AM1977) характеризуються розширеним спектром відносно мультирезистентних штамів грампозитивних бактерій та атипових збудників пневмоній. Проведені клінічні дослідження свідчать, що немоноксацин та пероральна форма KRP-AM1977 є ефективними для лікування пацієнтів з респіраторними захворюваннями, ін'єкційна форма KRP-AM1977 – при інфекціях, обумовлених *MRSA*, озеноксацин – при інфекціях шкіри.

Нові фторовані хінолони активні відносно *MRSA*, атипових збудників респіраторних інфекцій, анаеробів та мікроорганізмів, резистентних до фторхінолонів попередніх поколінь. Особливістю одного з нових препаратів – делафлоксацину – є високий ступінь проникнення в біоплівку *S. aureus*, що свідчить про перспективність застосування препарату при захворюваннях, обумовлених біоплівковими формами бактерій. Нині доведено ефективність препарату при госпітальній пневмонії, абдомінальних інфекціях та інфекціях урогенітального тракту.

Для фінафлоксацину, препарату цієї групи, характерним є підвищення активності в кислому середовищі, що дозволяє застосовувати препарат при інфекціях сечових шляхів та хворобах, обумовлених *Helicobacter pylori*.

Проводяться дослідження сполуки ACH-702, представника нового підкласу хінолонів – ізотіазохінолонів. ACH-702 виявляє активність відносно біоплівкових форм мікроорганізмів, а також мультирезистентних штамів *Mycobacterium tuberculosis*.

На увагу також заслуговує сполука гібридної конструкції, що поєднує у своїй структурі елементи будови рифампіцину та представника хінолонів CBR-2092 і має комбінований механізм дії. Препарат, розроблений на основі сполуки, може застосовуватися для лікування пацієнтів з персистуючою інфекцією, зумовленою *S. aureus*.

Представлена інформація свідчить про необхідність подальшого пошуку нових активних антимікробних засобів та перспективність розробки ефективних та безпечних препаратів серед представників класу хінолонів.

Ключові слова: антибіотики, хінолони/фторхінолони, антимікробна активність

М. Л. Дронова, Н. А. Врынчану, Д. М. Дудикова

Новые антибиотики хинолонового ряда: перспективы применения в клинической практике

В обзоре литературы обобщены данные по разработке новых препаратов класса хинолонов. В настоящее время три представителя этого класса находятся на этапе доклинических исследований, 10 препаратов – на этапе клинических испытаний.

Новые соединения класса нефторированных хинолонов (немоноксацин, озеноксацин и KRP-AM1977) характеризуются расширенным спектром относительно мультирезистентных штаммов грамположительных бактерий и атипичных возбудителей пневмоний. Проведенные клинические исследования свидетельствуют, что немоноксацин и пероральная форма KRP-AM1977 эффективны при лечении пациентов с респираторными заболеваниями, инъекционная форма KRP-AM1977 – при инфекциях, обусловленных *MRSA*, а озеноксацин – при инфекциях кожи.

Новые фторированные хинолоны активны в отношении *MRSA*, атипичных возбудителей респираторных инфекций, анаэробов и микроорганизмов, резистентных к фторхинолонам предыдущих поколений. Особенностью одного из новых препаратов – делафлоксацина, является высокая степень проникновения в биопленку *S. aureus*, что свидетельствует о перспективности применения препарата при заболеваниях, обусловленных биопленочными формами бактерий. В настоящее время доказана эффективность препарата при госпитальной пневмонии, абдоминальных инфекциях и инфекциях урогенитального тракта.

Для финафлоксацина, препарата этой группы, характерно повышение активности в кислой среде, что позволяет применять препарат при инфекциях мочевых путей и болезнях, обусловленных *Helicobacter pylori.*

Проводятся исследования соединения АСН-702, представителя нового подкласса хинолонов – изотиазохинолонов. АСН-702 проявляет активность в отношении биопленочных форм микроорганизмов, а также мультирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*.

Внимания также заслуживает соединение гибридной конструкции, сочетающее в своей структуре элементы строения рифампицина и представителя хинолонов CBR-2092. Соединение характеризуется комбинированным механизмом действия. Препарат, разработанный на его основе, может применяться для лечения пациентов с персистирующей инфекцией, обусловленной *S. aureus*.

Представленная информация свидетельствует о необходимости дальнейшего поиска новых активных антимикробных средств и перспективности разработки эффективных и безопасных препаратов среди представителей класса хинолонов.

Ключевые слова: антибиотики, хинолоны/фторхинолоны, антимикробная активность

M. Dronova, N. Vrynchanu, D. Dudikova

New quinolone antibiotics: clinical perspectives

The review summarizes the data of new quinolones development. There are 3 new quinolones in the process of preclinical studies and 10 drugs under clinical trials now.

New nonfluorinated quinolones (nemonoxacin, ozenoxacin and KRP-AM1977) demonstrate a broad spectrum activity against Gram-positive bacteria, including multi-drug-resistant (MDR) pathogens and atypical pathogens. Results of clinical trials involving nemonoxacin and KRP-AM1977 (oral form) showed good efficacy for the treatment of patients with respiratory diseases, KRP-AM1977 (injectable form) – for the treatment of infections caused by *MRSA*, and ozenoxacin – for the treatment of skin infections.

New fluoroquinolones possess specific activity against *MRSA*, atypical respiratory pathogens, anaerobes and fluoroquinolone-resistant microorganisms. The feature of delafloxacin is a high degree of penetration through *S. aureus* biofilm, indicating drug prospects for the treatment of biofilm-related infections. This drug demonstrated efficacy for the treatment of nosocomial pneumonia, abdominal infections and urogenital tract infections.

Finafloxacin showed enhanced potency under acidic conditions, making the drug suitable for use in the treatment of urinary tract infections and diseases caused by *Helicobacter pylori*.

ACH-702, a compound of a new quinolones subclass – isotiazoquinolone, was also investigated. ACH-702 demonstrated activity against bacterial biofilms and multiresistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*.

Attention also has to be given to a hybrid compound, possessing a combined mechanism of action due to the presence of rifampicin and quinolone CBR-2092 elements in its formula. The potential antimicrobial agent, containing this compound, may be useful for treatment of patients with persistent infection caused by *S. aureus*.

The information presented indicates a need for further search of new antimicrobial agents and demonstrates the promising properties of quinolones for the development of effective and safe drugs.

Key words: antibiotics, quinolones/fluoroquinolones, antimicrobial activity

Надійшла: 21.12.2014 р.

Контактна особа: Дронова Марія Леонідівна, аспірант, 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: ml.dronova@gmail.com

УДК 612.822.014.1:577.112

И. Ф. Беленичев, Е. С. Литвиненко

Ферментативное и неферментативное звено тиол-дисульфидной системы в головном мозге экспериментальных животных с церебральной ишемией: эффекты селеназы

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: селеназа, нейропротективная активность, церебральная ишемия, тиол-дисульфидная система

Несмотря на достигнутые успехи практической неврологии в борьбе с возникновением и последствиями церебральной патологии, проблема фармакологической коррекции этой группы заболеваний остается одной из актуальных проблем медицины. Исследованиями последних лет установлено, что в патогенезе большинства заболеваний, определяющих большой процент смертности и инвалидизации населения (мозговые инсульты, инфаркт миокарда, онкологические заболевания, гипертоническая болезнь и прочие) важную роль играет оксидативный стресс, включающий свободно-радикальное и перекисное окисление, которые приводят к повреждению мембран и гибели клеток [1–3].

Ключевая роль в защите клетки от оксидативного стресса отводится системе глутатиона [4]. Живая клетка использует три линии ферментативной защиты от активных соединений кислорода с помощью супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы (ГПР); глутатионредуктазы (ГР) и глутатионтрансферазы (Г-S-Т). Эти три линии защиты последовательно восстанавливают супероксидрадикалы, перекиси и гидроперекиси. Глутатион вносит основной вклад в функционирование антиоксидантной системы. Следовательно, глутатионовая антипероксидазная система эффективно защищает клетки от оксидативного стресса, и обычно только при ее недостаточности или истощении возникают серьезные нарушения [5].

В последнее время в практике лечения больных с нарушениями мозгового кровообращения получили широкое распространение антиоксиданты (мексидол, тиотриозолин, эмоксипин и др.). Однако на сегодняшний день все имеющиеся нейропротекторные препараты, испытанные в мультифокальных клинических исследованиях, недостаточно эффективны [6–8].

Существенное антиоксидантное действие оказывают селенсодержащие соединения. Это связано с тем, что селен входит в активный центр ГПР. Антиоксидантный эффект селена ряд авторов объясняет его накоплением в очаге ишемии и прямым мембраностабилизирующим действием, а также за счет включения селена в Se-зависимую ГПР [9, 10]. Поэтому справедлива будет точка зрения, что механизмы антиоксидантного и других эффектов препаратов селена тесно связаны с процессами подавления образования свободных радикалов и гидроперекисей липидов [9, 10]. Селен в тканях мозга может модулировать аффинность глутаминовых рецепторов, в частности NMDA. Снижая гипервозбудимость глутаматных рецепторов, селен уменьшает выброс возбуждающих аминокислот (глутамата и аспартата), тем самым, нейтрализуя проявления глутаматной «эксайтотоксичности». Еще одним немаловажным действием селена является его способность повышать экспрессию ГПР [11, 12].

Цель исследования – изучить влияние селеназы на показатели ферментативного и неферментативного звеньев

© Колектив авторів, 2015

тиол-дисульфидной системы (ТДС) в условиях церебральной ишемии (в эксперименте).

Материалы и методы. Экспериментальная часть выполнена на 40 самцах монгольских песчанок массой 60–80 г. Всех животных содержали на стандартном рационе питания. Исследования на животных проводили в соответствии с Директивой Европейского Союза 2010/10/63 EU. Согласно с программой исследования, использовали общепринятую в данное время модель экспериментального острого нарушения мозгового кровообращения – билатеральную перевязку общей сонной артерии. Операцию выполняли под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг), путем хирургического доступа выделяли общую сонную артерию и накладывали на нее шелковую лигатуру [13]. Для изучения действия препарата 10 животным вводили селеназу (Arzneimittel GmbH, Germany) – 50 мкг/кг в течение всего срока наблюдения (4 суток). Препараты вводили внутрибрюшинно 1 раз в сутки. Животным контрольной группы внутрибрюшинно вводили физиологический раствор. Животным группы сравнения по той же схеме вводили мексидол в дозе 100 мг/кг. По окончании эксперимента согласно протоколу исследования животных наркотизировали тиопенталом натрия (40 мг/кг), вскрывали черепную коробку и извлекали головной мозг [14]. Для исследования биохимических маркеров получали гомогенат головного мозга. Мозг промывали в 0,25 М сахарозном буфере (pH 7.4), охлажденном до 2 °С и измельчали в 10-кратном объеме (содержание белка 0,8–1,0 г/л) этого же буфера в гомогенизаторе Silent Crusher S (фирмы Heidolph). Грубую часть гомогената удаляли путем центрифугирования при 4 °С на центрифуге Eppendorf-5804R в течение 30 мин. Для получения цитозольной и митохондриальной фракций, гомогенат центрифугировали при 11 000 g (4 °С) на центрифуге Sigma 3-30K. Полученный материал использовали для проведения биохимических и иммуноферментных методик. Общий белок определяли биуретовым методом. Тиол-дисульфидную систему в гомогенате мозга лабораторных животных оценивали по содержанию восстановленного глутатиона [15], свободных SH-групп [15], активности ферментов ГР [15], ГПР [15] и Г-S-Т [15]. Анализ нормальности распределения оценивали по критериям Колмогорова-Смирнова (D) и Lilliefors, а также Shapiro-Wilk (W). В случае распределения, отличающегося от нормального, использовали U-критерий Mann-Whitney для 2 несвязанных выборок, для большего числа выборок – критерий Kruskal-Wallis с дальнейшим сравнением по Games-Howell.

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Все результаты представлены в виде M ± m, где M – среднее значение, m – ошибка среднего; p – уровень значимости. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При формировании у монгольских песчанок острого нарушения мозгового кровообращения (по типу ишемического инсульта) на 4 сутки эксперимента отмечено изменение в ТДС головного мозга животных. В этот срок наблюдения регистрировали повышение значений окисленных форм ТДС на фоне дефицита ее восстановленных форм в сравнении с группой интактных животных, что можно объяснить истощением антиоксидантной защиты на фоне окислительного стресса. Так, активности ГПР, ГР и Г-S-Т снизились на 43,1 %, 36,9 % и 61,4 % соответственно. Снизились показатели содержания восстановленного глутатиона на 85,5 % и SH-групп – на 74,9 % при одновременном увеличении фракции окисленного глутатиона на 56,6 %. Это свидетельствует о том, что в условиях церебральной ишемии в нервной ткани формируется неблагоприятный метаболический фон (снижение активности ферментов тиол-дисульфидной системы), приводящий к развитию оксидативного стресса. В нашем исследовании мы попытались нивелировать окислительные сдвиги, ведущие в конечном итоге к гибели ней-

рона, посредством введения модулятора ТДС – селеназы. Введение селеназы приводило к нормализации тиол-дисульфидного равновесия и уменьшению окислительного стресса в нервной ткани.

Из данных таблиц видно, что у животных экспериментальной группы, получавших селеназу, к 4 суткам происходит статистически достоверное повышение (в 2,23 раза) активности ГПР, в 1,9 раза активности ГР и в 1,7 раза активности Г-S-Т ($p < 0,05$) по сравнению с показателями животных без лечения. Изменения неферментативного звена ТДС на фоне лечения селеназой представлены в таблице 2. Наблюдается повышение содержания восстановленных форм (глутатион восстановленный в 3,7; SH-группы в 2,25 раза) и снижение окисленных форм ТДС (снижение уровня окисленного глутатиона в 1,49 раза) ($p < 0,05$). Референс-препарат мексидол уступал селеназе по степени влияния на исследуемые показатели ТДС. Это согласуется с результатами других исследований, которыми показано, что антиоксидантное действие мексидола направлено на торможение окислитель-

Таблица 1

Состояние ферментативного звена тиол-дисульфидной системы в ткани головного мозга животных с острым нарушением мозгового кровообращения, M ± m

Группа животных	Активность ГР, мкмоль/мг·хв	Активность ГПР, мкмоль/мг·хв	Активность Г-S-Т, мкмоль/мг·хв
Интактные животные, n = 10	19,50 ± 1,35	61,80 ± 2,90	15,80 ± 1,07
Острое нарушение мозгового кровообращения (контроль), n = 10	5,20 ± 0,72	14,20 ± 1,54	6,10 ± 0,97
Острое нарушение мозгового кровообращения + селеназа 50 мкг/кг, n = 10	10,10 ± 0,85*	31,70 ± 2,19*	10,80 ± 1,12
Острое нарушение мозгового кровообращения + мексидол 100 мг/кг, n = 10	6,50 ± 0,41*	18,70 ± 0,91*	6,90 ± 0,72

*Примечание. Здесь и в табл. 2: *изменения достоверны по отношению к группе контроля ($p < 0,05$), n – количество животных в группе.*

Таблица 2

Состояние неферментативного звена тиол-дисульфидной системы в ткани головного мозга животных с острым нарушением мозгового кровообращения, M ± m

Группа животных	Содержание SH-группы ммоль/г белка	Содержание глутатиона восстановленного мкмоль/г ткани	Содержание глутатиона окисленного мкмоль/г ткани
Интактные животные, n = 10	19,10 ±1,82	4,300 ± 0,830	0,330 ± 0,080
Острое нарушение мозгового кровообращения (контроль), n = 10	4,80 ± 0,62	0,620 ± 0,051	0,760 ± 0,610
Острое нарушение мозгового кровообращения + селеназа 50 мкг/кг, n = 10	10,80 ± 0,46*	2,300 ± 0,75*	0,510 ± 0,072
Острое нарушение мозгового кровообращения + мексидол 100 мг/кг, n = 10	6,30 ± 0,42*	0,923 ± 0,073*	0,722 ± 0,062

ной модификации белков [16]. Увеличение функционирования системы глутатиона в определенной степени позволяет восстановить редокс-равновесие и защитить мозг от активных форм кислорода и продуктов пероксидации [17, 18]. Проведение экспериментальной церебропротекторной терапии селеназой у монгольских песчанок с острой ишемией головного мозга способствует снижению интенсивности оксидативного стресса в нервной ткани. Подобное действие селеназы связано с реактивирующим влиянием на ГПР. В ходе метаболического процесса селен в виде селеноцистеина специфично встраивается в пептидную цепочку ГПР, повышая экспрессию последней [19, 20].

Выводы

1. В результате проведенных исследований установлено, что экспериментальное острое нарушение мозгового кровообращения приводит к смещению тиол-дисульфидного равновесия (уменьшение восстановленных и увеличение окисленных форм ТДС).

2. Введение селеназы (50 мкг/кг/сут) животным с церебральной ишемией приводит к активации одного из компонентов эндогенной нейропротекции – ТДС: повышению активности ГПР в 2,23 раза, ГР – в 1,9 и Г-S-Т – в 1,7 раза. Уровень глутатиона восстановленного увеличился в 3,7 раза, SH-групп – в 2,25 раза. На этом фоне содержание окисленного глутатиона снизилось в 1,49 раза.

3. Полученные результаты исследования являются экспериментальным обоснованием применения модулятора экспрессии ГПР – селеназы в качестве средства комплексной нейропотективной терапии.

1. *Гомазков О. А.* Нейрохимия ишемических и возрастных патологий мозга / О. А. Гомазков. – М. : Высшая школа, 2003. – 200 с.
2. Современные представления о механизмах патогенеза повреждений мозга и нейропротекторной терапии / Шанько Ю. Г., Танин А. Л., Наледько А. Н. [и др.] // ARS MEDICA. – 2009. – № 3 (13). – С. 97–105.
3. *Исайкин А. И.* Патогенетические аспекты терапии ишемического инсульта / Исайкин А. И. // Трудный пациент. – 2010. – Т. 8, № 4. – С. 27–30.
4. Антиоксиданти: клініко-фармакологічний аспект / Чекман І. С., Бєленічев І. Ф., Горчакова Н. О. [та ін.] // Український медичний часопис. – 2014. – № 1 (99). – С. 22–28.
5. *Орлова А. С.* Соматические расстройства и свободнорадикальные процессы при цереброваскулярной болезни / Орлова А. С. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8. – С. 220–224.
6. Рациональная нейропротекция / Беленичев И. Ф., Черний В. И., Колесник Ю. М. [и др.]. – Донецк : Издатель Заславский А. Ю., 2009. – С. 262.
7. Современные возможности терапии мозгового инсульта. В прицеле – нейропротекция / Одинак М. М., Янишевский С. Н., Цыган Н. В.[и др.] // Обозрение психиатрии и медицинской психологии. – 2012. – № 4. – С. 98–102.
8. *Луцкий М. А.* Некоторые особенности этиологии и патогенеза ишемического инсульта / Луцкий М. А., Фролов В. М., Бочарникова Н. М. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 652–655.
9. *Aldwin Suryo Rahmanto.* Selenium-containing Amino Acids as Direct and Indirect Antioxidants / Aldwin Suryo Rahmanto, Michael J. Davies // Life. – 2012. – № 64 (11). – P. 863–871.
10. Selenium preserves mitochondrial function,stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia / Suresh L. Mehta, Santosh Kumari, Natalia Mendelev, P. Andy Li // BMC Neuroscience. – 2012. – № 12 (3). – P. 45–50.
11. Selenium effectively inhibits 1,2-dihydroxynaphthalene-induced apoptosis in human lens epithelial cells through activation of PI3-K / Xiangjia Zhu, Kun Guo, Yi Lu // Akt pathway. Molecular Vision. – 2011. – № 17. – P. 2019–2027.
12. *Ганцгорн Е. В.* Патофизиологические основы современной фармакотерапии острой нейропротекции / Ганцгорн Е. В., Хлопонин Д. П., Макляков Ю. С. // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 2. – С. 4–12.
13. Frequency and determinants of lipid testing in ischemic stroke and transient ischemic attack: findings from get with the guidelines–stroke / Smith E. E., Pan W., Olson D. [et al.] // Stroke. – 2010. – V. 41 (2). – P. 232–238.
14. *Арушанян Э. Б.* Инсульт и эпифиз / Арушанян Э. Б., Наумов С. С. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2009. – № 12, (Вып. 2). – С. 67–74.

15. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов: методические рекомендации // Чекман И. С., Губский Ю. И., Беленичев И. Ф. [и др.]. – К.,2010 – 81 с.
16. *Буй Тхи минь Тху*. Фармакологическая характеристика селенсодержащих соединений (обзор) / Буй Тхи Минь Тху // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. Вып. 62. – Пятигорск : Пятигорск. ГФА, 2007. – С. 448–450.
17. Экспрессия васкулоэндотелиального фактора роста и характеристика эндотелиоцитов сосудов головного мозга животных с церебральной ишемией: Фармакологические эффекты нового метаболитропного препарата Лизиний / Колесник Ю. М., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.] // Патология. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 89–95.
18. Изучение глутатиона и ферментов его метаболизма у больных старших возрастных групп с хронической церебральной ишемий / Кулинский В. И., Колесниченко Л. С., Шпрах В. В. [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – Т. 1 (39). – С. 63–65.
19. *Halliwell B.* Free radical in Biology and Medicine / Halliwell B., Gutteridge M. C. – Oxford. Clarendon press, 1999. – 320 p.
20. *Велесницкая Д. В.* Использование глутатиона для перорального приема в целях увеличения его концентрации в крови крыс / Велесницкая Д. В., Пехота Н. Н., Ценкель Н. А. // Фундаментальные науки – медицине. Материалы международной научной конференции: тез. док. – Минск, 2013. – С. 122–124.

И. Ф. Беленичев, Е. С. Литвиненко

Ферментативное и неферментативное звено тиол-дисульфидной системы в головном мозге экспериментальных животных с церебральной ишемией: эффекты селеназы

Цель исследования – изучить влияние селеназы на показатели ферментативного и неферментативного звеньев тиол-дисульфидной системы (ТДС) в условиях церебральной ишемии (в эксперименте).

Ишемию моделировали путем необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий у монгольских песчанок (*Meriones unguiculatus*). Животным с церебральной ишемией селеназу вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мкг/ кг один раз в сутки в течение 4 суток после операции, эталонный антиоксидант мексидол – по той же схеме в дозе 100 мг/кг. Антиоксидантное действие селеназы оценивали по показателям ферментативного (активность глутатионпероксидазы (ГПР), глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (Г-S-Т)) и неферментативного (содержание глутатиона восстановленного, глутатиона окисленного и SH-групп) звеньев тиол-дисульфидной системы, которые определяли биохимическими методами в цитозольной фракции гомогената головного мозга.

Показано, что у животных контрольной группы на 4 сутки после окклюзии сонных артерий наблюдались нарушения в тиол-дисульфидной системе головного мозга – дисбаланс между восстановленными и окисленными интермедиатами на фоне угнетения активности ГПР, ГР и Г-S-Т по сравнению с интактной группой. Введение селеназы в течение 4 суток приводило к нормализации баланса восстановленных/окисленных форм глутатиона на фоне повышения активности глутатион-зависимых ферментов, особенно ГПР, по сравнению с группой контроля. Мексидол по влиянию на изучаемые показатели ТДС уступал селеназе.

Результаты исследования экспериментально обосновывают целесообразность применения селеназы в комплексной терапии ишемического инсульта.

Ключевые слова: селеназа, антиоксидантная активность, церебральная ишемия, тиол-дисульфидная система

І. Ф. Бєленічев, О. С. Литвіненко

Ферментативна та неферментативна ланки тіол-дисульфідної системи в головному мозку експериментальних тварин з церебральною ішемією: ефекти селенази

Мета дослідження – вивчення впливу селенази на показники ферментативної та неферментативної ланок тіол-дисульфідної системи (ТДС) за умов церебральної ішемії (в експерименті).

Ішемію моделювали шляхом незворотної білатеральної оклюзії загальних сонних артерій у монгольських піщанок (*Meriones unguiculatus*). Тваринам з церебральною ішемією селеназу вводили внутрішньоочеревинно в дозі 50 мкг / кг один раз на добу протягом 4 діб після операції. Еталонний антиоксидант мексидол уводили за такою самою схемою в дозі 100 мг/кг. Антиоксидантну дію селенази оцінювали за показниками ферментативної (активність глутатіонпероксидази (ГПР), глутатіонредуктази (ГР), глутатіонтрансферази (Г-S-Т)) і неферментативної (уміст глутатіону відновленого, глутатіону окисленого та SH-груп) ланок тіол-дисульфідної системи, які визначали біохімічними методами в цитозольній фракції гомогенату головного мозку.

Показано, що в тварин контрольної групи на 4 добу після оклюзії сонної артерії спостерігали порушення в тіол-дисульфідній системі головного мозку – дисбаланс між відновленими та окисле-

ними інтермедіатами на тлі пригнічення активності ГПР, ГР та Г-S-Т порівняно з інтактною групою. Введення селенази протягом 4 діб призводило до нормалізації балансу відновлених/окиснених форм глутатіону на тлі підвищення активності глутатіон-залежних ферментів, особливо ГПР, порівняно с групою контролю. Мексидол за впливом на досліджувані показники ТДС поступався селеназі.

Результати дослідження експериментально обгрунтовують доцільність застосування селенази в комплексній терапії ішемічного інсульту.

Ключові слова: селеназа, антиоксидантна активність, церебральна ішемія, тіол-дисульфідна система

I. F. Belenichev, E. S. Litvinenko

Enzymatic and non-enzymatic links of thiol-disulfide system in the brain of experimental animals with cerebral ischemia: effects of selenase

The aim of this study was to estimate the influence of selenase on the markers of enzymatic and non-enzymatic links of thiol-disulfide system (TDS) in conditions of cerebral ischemia (in the experiment).

Ischemia was induced by irreversible bilateral occlusion of the common carotid arteries in Mongolian gerbils (Meriones unguiculatus). Selenase was injected to the animals with cerebral ischemia once a day during 4 days after surgery in a dose of 50 g/ kg intraperitoneally. Reference antioxidant mexidol was injected by the same shedule in a dose of 100 mg/kg. Antioxidant activity of selenase was assessed by the markers of enzymatic (glutathione peroxidase (GPR), glutathione reductase (GR), glutathione (TST)) and non-enzymatic (recovered glutathione, oxidized glutathione and SH-group) links of thiol-disulfide system which were determined by biochemical methods in the cytosolic fraction of the brain homogenate.

Ischemic animals showed significant changes of thiol-disulfide system markers in the brain: the disbalance between reduced and oxidized intermediates for background suppression activity of GPR, GR and TST in comparison with the intact group. The animal group treated with selenase for 4 days demonstrated significantly increased levels of enzymatic and non enzymatic TDS markers, especially GPR, in comparison with the control group. Mexidol was inferior to selenase by the influence on the studied TDS parameters.

The results demonstrate the possibility of applying selenase in the complex therapy of cerebral ischemia.

Key words: selenase, antioxidant activity, cerebral ischemia, thiol-disulfide system

Поступила: 26.01.2015 г.

Контактное лицо: Беленичев Игорь Федорович, доктор биологических наук, профессор, кафедра фармакологии и медицинской рецептуры, Запорожский государственный медицинский университет, д. 26, просп. Маяковского, г. Запорожье, 69035. Тел.: +38 0 61 34 27 41. Электронная почта: ifb1914@mail.ru

УДК 611.812 : 615.214.32

Л. О. Громов, Л. Г. Гончар-Чердаклі, А. П. Ворожбит, Л. С. Тарнавська, В. Я. Пішель, О. К. Ярош

Експериментальне дослідження півкульної асиметрії антидепресивних ефектів амітриптиліну

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

Ключові слова: амітриптилін, розповсюджена калієва депресія, півкульна антидепресантна активність

Зростаючі соціально-економічні навантаження в суспільстві вимагають, з одного боку, застосування великого арсеналу нейротропних засобів стимулюючого типу дії для підняття рівня працездатності, а з іншого, препаратів захисної лінії, до яких відносяться переважно препарати з антидепресивним впливом на ЦНС. Останні все частіше використовують при «синдромі вигорання, хронічної втоми, менеджера» і т. ін. [1–3]. Однак далеко не в усіх випадках ефективність таких засобів залишається однаковою для кожної людини, оскільки фармакологічною мішенню психотропних препаратів є різні ланки нейрохімічної передачі нервового імпульсу. Вони також можуть відрізнятися в окремих півкулях головного мозку пацієнтів за умов наявності морфо-функціональної асиметрії [4–8].

В основі мозкової півкульної латералізації лежать генетично детерміновані морфологічні, функціональні та нейрохімічні відмінності великих гемісфер. У зв'язку з цим важливим є дослідження в експерименті ефективності психофармакологічних засобів за умов переважання функціональних можливостей реагування однієї з півкуль мозку [9–11].

Мета дослідження – визначення специфічної антидепресивної активності амітриптиліну залежно від його переважного впливу на півкулі головного мозку.

Матеріали та методи. Дослідження проведені на статевозрілих безпородних білих мишах-самцях масою 18–25 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Для вивчення домінуючої чутливості до амітриптиліну неокортикальних ділянок лівої або правої півкулі головного мозку тварин їх поділяли на 2 групи: контрольну та піддослідну. Піддослідних тварин використовували для формування моделі розповсюдженої депресії з тимчасовим зворотним функціональним «вимкненням» однієї з півкуль мозку шляхом накладення на неї 25 % розчину калію хлориду, приготовленого *ex tempore* [12, 13]. Через 48 год після «вимкнення» однієї з півкуль мишам піддослідної групи внутрішньоочеревинно (в/о) вводили амітриптилін у дозі 7,5 мг/кг та порівнювали ступінь депресії з ефектами амітриптиліну в контрольних мишей без аплікації калію хлориду.

Ефективність амітриптиліну як антидепресанта визначали методом «підвішування за хвіст» (tail suspension test), який ґрунтується на оцінці поведінки тварини, що піддана короткостроковому, але неминучому стресу від перебування в підвішеному стані [13]. Визначали періоди нерухомості («завмирань», іммобілізації) як відсутність ініційованих рухів лише з допустимим пасивним коливанням тіла, латентні періоди настання першого завмирання після початку підвішування та сумарну тривалість іммобілізацій. Вплив амітриптиліну порівнювали зі змінами показників у контрольній групі тварин, яким вводили в еквівалентному об'ємі воду.

Експериментальні дані двох груп порівнювали з визначенням достовірної різниці за критерієм Стьюдента при $p < 0,05$ [14, 15].

Результати та їх обговорення. Отримані результати в експериментах з визначення впливу амітриптиліну на мишей контрольної групи (без аплікації калію хлориду) та тварин з почерговим функціональним «вимкненням» лівої чи правої великої півкулі головного мозку надано в таблиці.

© Колектив авторів, 2015

Таблиця

Показники «tail suspension test» у мишей-самців за умов калієвої депресії неокортикальних ділянок лівої або правої півкулі головного мозку та впливу амітриптиліну, M ± m

Експериментальна група	Показники стану психічної депресії			
	n	латентний період 1-го епізоду, с	кількість епізодів іммобілізації	загальна тривалість іммобілізації, с
Контроль (вихідні дані)	10	56,2 ± 10,8	8,5 ± 1,3	118,2 ± 13,7
Контроль (після введення Амітриптиліну, 7,5 мг/кг)	10	117,0 ± 22,8*	7,2 ± 1,1	96,4 ± 18,9
Калієва депресія неокортексу лівої півкулі мозку	10	23,6 ± 2,7*	25,8 ± 1,4*	236,5 ± 15,9*
Калієва депресія неокортексу лівої півкулі мозку + Амітриптилін, 7,5 мг/кг	10	56,2 ± 11,7**	7,4 ± 0,8**	131,4 ± 22,4**
Калієва депресія неокортексу правої півкулі мозку	9	127,0 ± 31,9	5,4 ± 1,4	68,2 ± 17,5*
Калієва депресія неокортексу правої півкулі мозку + Амітриптилін, 7,5 мг/кг	6	23,5 ± 4,4#	11,5 ± 1,5#	139,2 ± 21,7#

*Примітка. *$P < 0,05$ відносно контролю, **$P < 0,05$ відносно показників калієвої депресії лівої півкулі, #$P < 0,05$ відносно показників калієвої депресії правої півкулі, n – кількість тварин у групі.*

Проведені досліди показали, що в мишей контрольної групи в тесті «підвішування за хвіст» (tail suspension test) реєстрували наступні вихідні показники: латентний період (ЛП) першої іммобілізації становив у середньому (56,2 ± 10,8) с, кількість випадків зависань (КЗ) – 8,5 ± 1,3, а їхня загальна тривалість (ТЗ) була на рівні (118,2 ± 13,7) с.

Амітриптилін, введений прооперованим мишам без функціонального вимкнення півкуль мозку (контроль), викликав класичний антидепресивний ефект, який проявлявся суттєвим подовженням ЛП з (56,2 ± 10,8) с до (117,0 ± 22,8) с ($p < 0,05$) і тенденцією до зниження кількості та тривалості епізодів зависань.

Після аплікації розчину KCl на поверхню кори лівої півкулі мозку й її функціонального вимкнення ефективність антидепресивного впливу амітриптиліну змінилася наступним чином: реєстрували достовірне зменшення тривалості ЛП порівняно з дією препарату в контрольній групі мишей з (117,0 ± 22,8) с до (56,2 ± 11,7) с, тобто ефект знизився більше, ніж удвічі. Суттєвих змін кількості епізодів завмирань порівняно з дією амітриптиліну на тварин без вимкнення лівої півкулі не спостерігали, а загальна тривалість випадків завмирань мала тільки тенденцію до подовження.

Натомість функціональне вимкнення правої півкулі викликало значно виразнішу зміну антидепресивної ефективності амітриптиліну. Так, тривалість ЛП до першого завмирання зменшилася порівняно з ЛП у тварин без аплікації калію хлориду більше, ніж у 5 разів. Суттєво зросла кількість зависань, які реєстрували частіше в 2,1 разу, а їхня сумарна тривалість виросла в 2 рази.

Зміни ефективності амітриптиліну при функціональному вимкненні однієї з півкуль наведено на рисунку.

З рисунку видно, що розповсюджена калієва депресія лівої півкулі викликала зміну антидепресивної активності амітриптиліну значно меншу і тільки за показником тривалості латентного періоду до першого зависання. Наведені дані свідчать, що функціональне вимкнення правої півкулі значно сильніше вплинуло на специфічну активність амітриптиліну ніж калієва депресія лівої гемісфери.

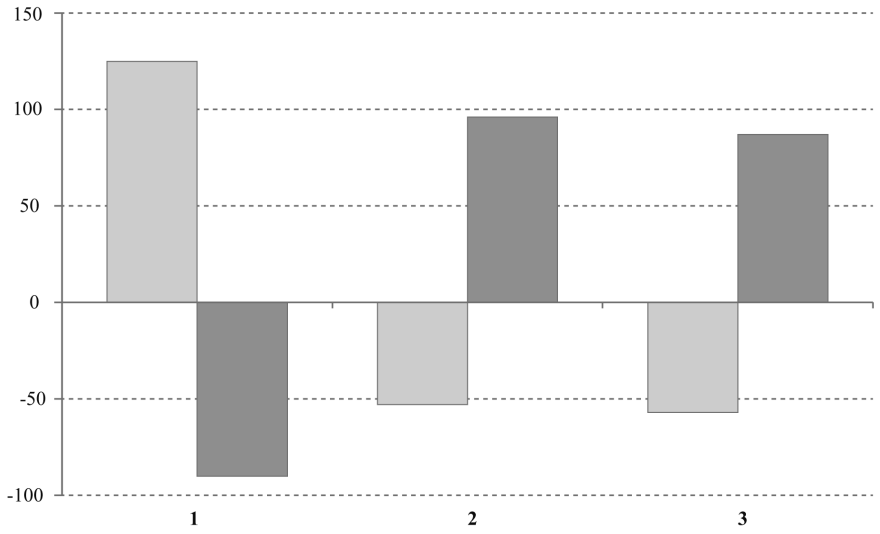


Рисунок. Антидепресивна ефективність амітриптиліну (в/о 7.5 мг/кг) за показниками тривалості латентного періоду (1), кількості зависань (2) і загальної тривалості зависань (3) при функціональному вимкненні лівої (лівий стовпчик) і правої (правий стовпчик) півкулі головного мозку мишей, % до показників ефектів амітриптиліну

Аналіз отриманих результатів свідчить, що за умов введення амітриптиліну на фоні аплікації розчину калію хлориду і функціонального вимкнення півкуль антидепресивна ефективність препарату суттєво змінюється, однак по різному. Після вимкнення лівої півкулі специфічний вплив амітриптиліну зменшується за показником тривалості ЛП до першого зависання в 2,1 разу, без суттєвого зменшення кількості завмирань та їхньої загальної тривалості. Натомість, депресія правої гемісфери викликала значно суттєвіше зменшення активності: тривалість ЛП подовжувалася в 5,4 разу, а зменшення кількості завмирань та їхньої загальної тривалості зростало в 5,4 та 2,0 разу відповідно.

На основі цих даних можна вважати, що вимкнення правої півкулі спричинило майже повну втрату антидепресивної активності амітриптиліну, що може вказувати на його переважний вплив на праву гемісферу мозку, тобто його антидепресивний механізм реалізується через центральні механізми переважно правої половини мозку.

Виявлені факти правопівкульного механізму дії амітриптиліну передбачають його раціональне клінічне використання в пацієнтів з депресивними станами, викликаними переважаючою функціональною активністю правої гемісфери, оскільки препарат у них може виявитися більш ефективним і, навпаки, – може мати менший терапевтичний вплив на хворих з «лівопівкульними» депресивними станами. Такий «півкульний» підхід до вибору та призначення фармакологічних засобів може значно покращити ефективність препаратів, зменшити кількість і тяжкість побічних явищ та необхідність підвищення доз нейротропних засобів [16–19].

Висновки

1. Введення амітриптиліну на фоні функціонального вимкнення правої півкулі головного мозку викликає більше зниження показників розвитку депресивного стану, ніж за умов пригнічення лівої півкулі, що може свідчити про переважаючу дію антидепресанту на неокортекс правої мозкової гемісфери.

2. На основі аналізу отриманих експериментальних даних можна припустити, що за клінічних умов призначення амітриптиліну буде більш ефективним у пацієнтів з розташуванням патологічного вогнища в неокортексі правої півкулі головного мозку.

1. *Арцимович Н. Г.* Синдром хронической усталости / Н. Г. Арцимович, Т. С. Галушина. – М. : Научный мир, 2002. – 220 с.
2. *Afari N.* Chronic fatigue syndrome: A review / N. Afari, D. Buchwald // Am. J. Psychiatry. – 2003. – V. 160, № 2. – P. 221–236.
3. *Дюкова Г. М.* Астенический синдром: проблемы диагностики и терапии / Г. М. Дюкова // Эф. неврология и психиатрия. – 2012. – № 1. – С. 16–22.
4. *Заика А. П.* Межполушарная ассиметрия нейромедиаторов в мозгу белых крыс / А. П. Заика, Л. А. Громов // Укр. біохім. журн. – 1987. – Т. 59, № 5. – С. 84–86.
5. *Громов Л. А.* Межполушарная психофармакология / Л. А. Громов, О. А. Евтушенко, И. Н. Танасова // Журнал АМН України. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 346–353.
6. *Кузнецова С. М.* Полушарные особенности изменений содержания основных метаболитов в лобной и затылочной области головного мозга у больных среднего возраста, перенесших ишемический инсульт, в восстановительный период / С. М. Кузнецова, Д. В. Шульженко // Проблемы старения и долголетия . – 2007. – Т. 6, № 1. – С. 49–54.
7. Hemispheric asymmetry of visual scene processing in the human brain: Evidence from repetition priming and intrinsic activity / W. D. Stevens, I. Kahn, G. S. Wig, D. L. Schacter // Cereb Cortex. – 2012. – V. 22, № 8. – P. 1935–1949.
8. Влияние аминотиоловых антигипоксантов на межполушарную асимметрию головного мозга / В. В. Михеев, В. В. Марышева, Б. Н. Богомолов, Л. В. Жукова-Уильямс // Обзоры по клинич. фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – № 1. – С. 51–53.
9. *Capper-Loup C.* Hemispheric lateralization of the corticostriatal glutamatergic system in the rat / C. Capper-Loup, D. Rebell, A. Kaelin-Lang // J. Neural. Transm. – 2009. – V. 116, № 9. – P. 1053–1057.
10. *Новоселова Н. Ю.* Межполушарная асимметрия содержания фосфолипидов синаптосом мозга крыс / Н. Ю. Новоселова, Н. С. Сапронов // Асимметрия. – 2012. – Т. 6, № 3. – С. 23–309.
11. *Morenkov E. D.* Distribution of monoamines and their metabolites in both sides of the rat brain and its relation with functional motor asymmetry // E. D. Morenkov, V. S. Kudrin // Журнал асимметрия. – 2013. – Т. 4. – С. 12–21.
12. *Буреш Я.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высш. шк., 1991. – 399 с.
13. *Cryan J. F.* The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity. A review for pharmacological and genetic studies in mice / J. F. Cryan, C. Mombereau, A. Vassout // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2005. – V. 129, № 4–5. – P. 571–625.
14. *Реброва О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М. : Медиосфера, 2000. – 312 с.
15. *Лапач С. Н.* Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 640 с.
16. *Кузнецова С. М.* Полушарные особенности постинсультной реорганизации метаболизма и церебральной гемодинамики / С. М. Кузнецова // Матер. Всерос. конф. с межд. уч. – Москва, 2–3.12.2010. – С. 182–186.
17. *Arya R.* Pharmacotherapy of Focal Epilepsy in Children: A Systematic Review of Approved Agents / R. Arya, T. A. Glauser // CNS Drugs. – 2013. – V. 27, № 4. – P. 273–286.
18. *Гончар-Чердаклі Л. Г.* Доминатное лево-правополушарное действие антиконвульсантов в условиях распространяющейся калиевой депрессии полушарий мозга белых мышей / Л. Г. Гончар-Чердаклі // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – Т. 34, № 3. – С. 12–17.
19. *Kenyon K.* Carbamazepine treatment of generalized tonic-clonic seizures in idiopathic generalized epilepsy / K. Kenyon, S. Mintzer, M. Nei // Seizure. – 2014. – V. 23, № 3. – P. 234–236.

Л. О. Громов, Л. Г. Гончар-Чердаклі, А. П. Ворожбит, Л. С. Тарнавська, В. Я. Пішель, О. К. Ярош

Експериментальне дослідження півкульної асиметрії антидепресивних ефектів амітриптиліну

В експериментах на мишах досліджували ефекти антидепресанту амітриптиліну (внутрішньоочеревинно, 7,5 мг/кг, одноразово) за тестом «підвішування за хвіст» (tail suspension test), за умов аплікації 25 % розчину калію хлориду на поверхню кори лівої або правої великої півкулі головного мозку з відтворенням розповсюдженої калієвої депресії.

Функціональне пригнічення лівої півкулі призводить до зменшення тривалості латентного періоду (ЛП) початку епізодів «завмирань» у 2,4 разу й збільшення кількості епізодів іммобілізації в 3 рази та подовження їхньої загальної тривалості в 2,3 разу. Розповсюджена депресія правої півкулі головного мозку спричиняє протилежні, але дещо менші ефекти: тривалість ЛП подовжується в 2,5 разу, кількість іммобілізацій зменшується на 36,5 %, а їхня загальна тривалість достовірно скорочується на 42,3 % ($P < 0,05$). За умов пригнічення функціонального стану лівої півкулі амітриптилін підсилює антидепресантну ефективність, збільшуючи ЛП першого епізоду іммобілізації тварин. Натомість на поведінкові реакції мишей з ослабленими функціями неокортексу правої півкулі препарат впливає негативно, викликаючи зменшення антидепресивної ефективності амітриптиліну зі скороченням ЛП і збільшенням чисельності епізодів та сумарної тривалості депресивної іммобілізації тварин.

На основі аналізу отриманих експериментальних даних можна припустити, що антидепресивний ефект амітриптиліну реалізується переважно за рахунок дії на неокортекс правої півкулі головного мозку, що може бути передумовою диференційованого призначення препарату залежно від розташування патологічного вогнища та латералізації функцій у пацієнтів з депресивними станами.

Ключові слова: амітриптилін, розповсюджена калієва депресія, півкульна антидепресантна активність

Л. А. Громов, Л. Г. Гончар-Чердакли, А. П. Ворожбит, Л. С. Тарнавская, В. Я. Пишель, А. К. Ярош

Экспериментальное исследование полушарной асимметрии антидепрессивных эффектов амитриптилина

В экспериментах на мышах исследовали эффекты антидепрессанта амитриптилина (внутрибрюшинно, 7,5 мг/кг, однократно) по тесту «подвешивание за хвост» (tail suspension test) в условиях аппликации 25 % раствора калия хлорида на поверхность коры левого или правого большого полушария головного мозга с воспроизведением распространяющейся калиевой депрессии.

Функциональное угнетение левого полушария приводит к уменьшению продолжительности латентного периода (ЛП) начала эпизодов «замираний» в 2,4 раза с увеличением частоты их появления в 3 раза и суммарного удлинения в 2,3 раза. Распространяющаяся депрессия правого полушария головного мозка вызывает противоположные, но несколько меньшие эффекты: продолжительность ЛП увеличивается в 2,5 раза, количество иммобилизаций уменьшается на 36,5 %, а их общая продолжительность достоверно сокращается на 42,3 % ($P < 0,05$). В условиях угнетения функционального состояния левого полушария амитриптилин усиливает антидепрессантную эффективность, увеличивая ЛП первого эпизода иммобилизации животных. Зато на поведенческие реакции мышей с ослабленными функциями неокортекса правого полушария препарат влияет негативно, вызывая уменьшение антидепрессивной эффективности амитриптилина с сокращением ЛП, увеличением численности эпизодов и суммарной продолжительности депрессивной иммобилизации животных.

На основании анализа полученных экспериментальных данных можно предполагать, что антидепрессивный эффект амитриптилина реализуется преимущественно за счет воздействия на неокортекс правого полушария головного мозга, что может быть предпосылкой дифференцированного назначения препарата в зависимости от расположения патологического очага и латерализации функций у пациентов с депрессивными состояниями.

Ключевые слова: амитриптилин, распространяющаяся калиевая депрессия, полушарная антидепрессантная активность

L. O. Gromov, L. G. Gonchar-Cherdakli, A. P. Vorozhbit, L. S. Tarnavska, V. J. Pishel, A. K. Yarosh

Experimental investigation of hemispheric asymetry of amitriptyline antidepressant effects

The effects of antidepressant amitriptyline (i/p, 7,5 mg/kg, single dose) were investigated in mice using «tail suspension test». Potassium spreading depression was produced by application of a 25 % solution of potassium chloride on the surface of the cortex of the left or right big cerebral hemisphere. Potassium – induced functional inhibition of left hemisphere reduced the latent period (LP) duration of the beginning «fading» episodes of 2,4 times while increased the frequency of their occurrence in 3 times and their elongation in 2,3 times. Spreading depression of the right hemisphere caused somewhat smaller effects: increased LP duration in 2,5 times, reduced the amount of immobilization episodes by 36,5 % and their total duration by 42,3 % ($P < 0,05$). The functional depression of the left hemisphere led to increase antidepressant amitriptyline efficiency by elongation the LP of the first «fading» episode. But on the behavioural responses of mice with weakened functions of the right hemisphere of the neocortex, the drug affected adversely, causing a decrease in the amitriptyline effectiveness with the reduction of the LP, increase the number of «fading» episodes and total duration of depressive behaviour.

Based on the analysis of the experimental data can be assumed that the antidepressant effect of amitriptyline is realized mainly due to the impact on the neocortex of the brain right hemisphere, which may be a prerequisite for differentiated administration of the drug, depending on the location of the pathological focus and lateralization of function in patients with depression.

Key words: amitriptyline, potassium spreading depression, hemispheric antidepressant activity

Надійшла: 16.12.2014 р.

Контактна особа: Ярош Олександр Кузьмич, доктор медичних наук, професор, відділ нейрофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03680. Тел. + 38 0 44 456 98 65. Електронна пошта: yarosh44@mail.ru

УДК 615.214.3:616.831-005.1:616.037:577.112.6:591.51

Р. Д. Дейко[1], С. Ю. Штриголь[1], О. О. Колобов[2], О. Я. Міщенко[1]

Корекція неврологічних і когнітивних порушень при церебральній ішемії оригінальними нейроактивними олігопептидами

[1]Національний фармацевтичний університет, м. Харків
[2]ФДУП «Державний науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів» ФМБА Росії, Санкт-Петербург, Російська Федерація

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровообігу, нейроактивні олігопептиди, неврологічний дефіцит

Порушення мозкового кровообігу (ПМК) є однією з найпоширеніших причин смертності та інвалідизації населення в світі. Зокрема, в Україні щороку від інсульту помирає 120–125 тис. осіб, а в США число хворих, що перенесли інсульт, зростає на 600 тис. щорічно [1]. Такі хворі характеризуються неврологічним дефіцитом (НД), вираженим значно або помірно залежно від форми ПМК. Нерідко зустрічається також пригнічення когнітивних функцій, що призводить до соціальної дезадаптації. Наслідки ПМК є значним соціально-економічним тягарем, особливо в разі, коли від них страждає працездатне населення, що має місце в Україні [1, 2].

З метою патогенетичної терапії ПМК дедалі частіше використовують нейрометаболічні засоби, які завдяки політропним механізмам антиішемічного захисту сприяють регресу НД, відновленню (або покращанню) моторних та когнітивних функцій [2, 3]. До таких засобів належать гемодеривати зі збалансованим набором моноамінів, мікроелементів, олігопептидів та вітамінів (наприклад, Актовегін®, Цереброкурин®), а також хімічно модифіковані похідні фізіологічно активних біомолекул, позбавлені гормональної активності, такі як пептидергічні препарати: церебропротектор та ноотроп семакс – ланка адренокортикотропного гормона $(АКТГ)_{4-7}$, антиоксидант та ноотроп Ноопепт®, що метаболізується з утворенням ендогенного біорегулятора циклопролілгліцину. Однак більшість таких засобів мають недоліки, переважно фармакокінетичного характеру: руйнування тканинними пептидазами та ферментами крові (низька тривалість дії ендогенних лігандів пептидних рецепторів), нездатність проникнути крізь гемато-енцефалічний бар'єр (обмеженість використання в клінічних умовах ростових факторів нейроцитів) [4]. Тому створення та дослідження нових олігопептидних церебропротекторів із покращеними фармакодинамічними та фармакокінетичними показниками є актуальною задачею.

У Науково-дослідному інституті особливо чистих біопрепаратів (м. Санкт-Петербург) під керівництвом доктора біологічних наук О. О. Колобова створено низку нейроактивних олігопептидів, похідних $АКТГ_{15-18}$ загальної формули Acetyl-Lys-Lys-Arg-Arg-amide. Вони характеризуються стійкістю до амінопептидаз крові, тривалою дією та низькою токсичністю за рахунок введення до їхньої структури D-форм та N-метильованих похідних лізину та аргініну [5]. Ці засоби збільшують виживаність щурів із моделлю гострого ПМК, мають сприятливий спектр психотропної активності: виражену ноотропну, акто- та алкопротекторну дію [8]. Лідерами за результатами попередніх досліджень за виразністю зазначених ефектів виявилися пептиди Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide та Acetyl-(D-Lys)-Lys-(D-Arg)-Arg-amide, лабораторні шифри яких відповідно КК-1 та КК-5.

Мета дослідження – з'ясувати вплив нейроактивних олігопептидів КК-1 та КК-5 на неврологічний дефіцит, локо-

© Колектив авторів, 2015

моторну, орієнтовно-дослідницьку активність, вегетативний супровід емоційної реакції та когнітивні функції щурів із моделлю гострого ПМК.

Матеріали та методи. Гостре ПМК моделювали шляхом незворотної білатеральної каротидної оклюзії під пропофоловим наркозом (дипривaн, «Fresenius Kabi», Австрія, 60 мг/кг внутрішньоочеревинно) на 65 білих щурах-самцях масою 180–220 г [6]. Тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ з вільним доступом до води та їжі [7]. Для експерименту щурів рандомізували на такі групи: 1 – псевдооперовані (усі етапи операції, крім перев'язки судин, n = 5), 2 – контрольна патологія (гостре ПМК без лікування, n = 31), 3 – група тварин, що отримували лікування препаратом порівняння семаксом (НВЦ «Пептоген», Росія, n = 15), 4 – група тварин, що отримували лікування препаратом КК-1 (n = 22), 5 – лікування препаратом КК-5 (n = 19). Обидва досліджувані нейропептиди та референс-препарат семакс, що є аналогом за хімічною структурою, фармакологічною активністю та шляхом уведення, вводили інтраназально у вигляді водних розчинів в умовно ефективній дозі 0,02 мг/кг [8], уперше – через 3–5 хв після виходу тварини з наркозу, далі – щодоби протягом 96 год постоклюзійного періоду. Тваринам перших двох груп інтраназально вводили еквівалентний об'єм 0,9 % розчину натрію хлориду.

Протягом 4 діб після оперування реєстрували НД за шкалою McGraw Stroke Index [9].

Локомоторну, орієнтовно-дослідницьку активність і вегетативний супровід емоційної реакції оцінювали в тесті «відкрите поле» (ВП) [10, 11], вплив нейроактивних олігопептидів на когнітивні функції – в умовах тесту «екстраполяційне вивільнення» (ЕВ) [11]. Обидва тести проводили на 3 добу постоклюзійного періоду.

Результати наведено у формі середньої та стандартного відхилення M ± m та оброблено за допомогою методів варіаційної статистики з використанням програми Microsoft Excel 2010 [12]. Використано параметричний t-критерій Стьюдента у випадку нормального розподілу та Т-критерій Манна-Уїтні за його відсутності, при урахуванні в альтернативній формі – кутове перетворення Фішера φ.

Результати та їх обговорення. Церебральна ішемія виявлялася комплексом неврологічних симптомів, найвиразнішими з яких були загальмованість і зниження м'язового тонусу, тремор, птоз, манежні рухи, парез та параліч кінцівок. До кінця першої доби спостереження в групі КП загинуло 20 щурів із 31 (64,5 %), у той час як у групі псевдооперованих усі тварини лишалися живими. Максимальної виразності НД набув уже до 12 год постоклюзійного періоду (6,55 бала), поступово згасаючи протягом подальшого часу (табл. 1). На 4 добу його показник у групі КП становив 1,64 бала, а кількість щурів, що вижили, – 7 (22,6 %).

Очевидні зміни мали місце в тесті ВП. За 3 хв спостереження псевдооперовані тварини пересікали в середньому 26,2 квадрата, а сума стійок та обстежених отворів дорівнювала 15,6 ± 3,8 (табл. 2). Церебральна ішемія призвела до зниження локомоторної (на 45,4 %) та орієнтовно-дослідницької активності (на 38,0 %) щурів, що свідчить про поведінкові порушення тварин при гострому ПМК.

Результатом гострого ПМК у щурів є когнітивна дисфункція, що виявилася збільшенням часу пірнання під край циліндра в тесті ЕВ (на 181 %, $p < 0,05$) та зменшенням відсотка тварин, що виконали тест (на 33 %, $p < 0,05$), порівняно з відповідними показниками псевдооперованих тварин (табл. 3). Такі результати свідчать про порушення інтегральної розумової діяльності в щурів із церебральною ішемією.

Препарат порівняння семакс і нейропептид КК-1 чинили лікувальний ефект, знижуючи летальність на 37 % та 27 % відповідно порівняно з показником групи КП ($p < 0,05$). Фармакологічний препарат КК-5 виявив тенденцію до збільшення виживаності щурів на 19,5 % порівняно з показником групи КП ($p > 0,05$).

Таблиця 1

Неврологічний дефіцит і виживаність щурів із моделлю гострого порушення мозкового кровообігу та за впливу нейроактивних пептидів

Група, препарат, n	Неврологічний дефіцит, бал				
	12 год	24 год	48 год	72 год	96 год
Псевдооперовані тварини, n = 5	0*	0* (n = 5*)	0* (n = 5*)	0* (n = 5*)	0* (n = 5*)
Церебральна ішемія + 0,9 % NaCl, n = 31	6,55 ± 0,60	3,67 ± 1,06 (n = 11)	2,14 ± 0,90 (n = 9)	2,29 ± 0,76 (n = 8)	2,64 ± 1,19 (n = 7)
Церебральна ішемія + семакс, n = 15	2,89 ± 1,12*	3,43 ± 1,40 (n = 11*)	0,80 ± 0,29 (n = 9*)	0,50 ± 0,29* (n = 9*)	0,40 ± 0,19 (n = 9*)
Церебральна ішемія + КК-1, n = 22	1,84 ± 0,50*	4,00 ± 0,71 (n = 20*)	0,45 ± 0,17 (n = 13*)	2,30 ± 1,12 (n = 13*)	0,61 ± 0,19 (n = 11*)
Церебральна ішемія + КК-5, n = 19	5,67 ± 0,78	2,92 ± 1,40 (n = 12)	0,20 ± 0,10* (n = 9)	0,90 ± 0,29 (n = 8)	1,20 ± 0,29 (n = 8)

*Примітка. *Статистично значущі відмінності із групою контрольної патології ($p < 0,05$); наведено вихідне значення n, далі на кожну добу спостереження в дужках кількість тварин, що вижили.*

Таблиця 2

Локомоторна, орієнтовно-дослідницька активність та вегетативний супровід емоційних реакцій щурів із моделлю ішемії та за впливу нейроактивних олігопептидів КК-1 та КК-5

Показник (за 3 хв)	Псевдо-оперовані тварини (n = 6)	Церебральна ішемія			
		Контрольна патологія (n = 6)	Семакс 0,02 мг/кг (n = 5)	КК-1 0,02 мг/кг (n = 7)	КК-5 0,02 мг/кг (n = 5)
Локомоторна активність (кількість квадратів)	26,20 ± 5,20	14,30 ± 6,20 (- 45,4 %)	21,00 ± 7,30 (- 19,8 %)	20,40 ± 4,05 (- 22,1 %)	9,40 ± 3,60* (- 64,1 %)
Орієнтовно-дослідницька активність:					
✓ Стійки	8,00 ± 2,70	6,33 ± 1,90 (- 20,90%)	10,00 ± 2,70 (+ 25,0 %)	9,00 ± 0,80 (+ 12,5 %)	4,60 ± 1,50 (- 42,5 %)
✓ Отвори	7,60 ± 1,90	3,33 ± 1,60 (- 56,2 %)	5,60 ± 1,90 (- 26,3 %)	4,70 ± 1,30 (-38,2 %)	4,20 ± 1,90 (-44,7 %)
✓ Сума	15,60 ± 3,80	9,67 ± 3,50 (- 38,0 %)	15,60 ± 4,00 (0 %)	13,70 ± 1,96 (-12,2 %)	8,80 ± 3,30 (-43,6 %)
Емоційні реакції та їхній вегетативний супровід:					
✓ Болюси	0,60 ± 0,57	0,50 ± 0,30	0,20 ± 0,19	0,57 ± 0,42	0
✓ Уринації	0	0,17 ± 0,16	0	0	0
✓ Грумінг	0,80 ± 0,40	3,00 ± 0,80*	2,60 ± 1,30	4,10 ± 0,70*	3,00 ± 1,10
✓ Сума	1,40 ± 0,96	3,67 ± 0,80 (+162,1 %)	2,80 ± 1,50 (+ 100,0 %)	4,70 ± 0,70* (+ 235,7 %)	3,00 ± 1,10 (+ 114,3 %)
Сума всіх видів активності	43,20 ± 9,20	27,70 ± 7,90 (- 35,9 %)	39,40 ± 11,30 (- 8,8 %)	38,90 ± 3,40 (- 9,9 %)	21,20 ± 5,40 (- 50,9 %)

*Примітка. Тут і в табл. 3. *Статистично значущі відмінності з групою псевдооперованих щурів ($p < 0,05$).*

Таблиця 3

Когнітивні функції щурів із ішемією головного мозку та за впливу олігопептидів КК-1 та КК-5 у тесті екстраполяційного вивільнення

Група, препарат, n	Час пірнання, с	Зміни до групи псевдооперованих тварин, %	Тварини, що виконали тест, %
Псевдооперовані тварини, n = 6	56,83 ± 28,00	-	100 (6/6)
Церебральна ішемія + 0,9 % NaCl, n = 6	159,80 ± 41,10*	+ 181,2	67 (4/6) *
Церебральна ішемія + семакс, n = 5	133,20 ± 52,70	+ 134,4	80 (4/5)
Церебральна ішемія + КК-1, n = 7	102,30 ± 37,00*	+ 80,0	86 (6/7)
Церебральна ішемія + КК-5, n = 5	215,00 ± 42,70*	+ 278,3	40 (2/5) *

Досліджувані олігопептиди та референс-препарат знижували НД, що виникав на тлі церебральної ішемії. Однак його динаміка різнилася в усіх засобів. Так, семакс та КК-1 значно редукували НД уже через 12 год після лігування судин та знижували його максимально на 4 та 2 добу відповідно (у 6,6 та 4,8 разу проти показника групи КП). Нейропротекторна активність олігопептиду КК-5 виявилася наприкінці першої доби спостереження, досягнувши максимуму через 48 год (НД зменшився в 10,7 разу порівняно з показником КП, $p < 0,05$). Надалі означений показник дещо збільшувався за рахунок посилення симптомів, пов'язаних із порушенням нервово-м'язової трансмісії (тремор, слабкість кінцівок).

У тесті ВП семакс та КК-1 нормалізували показники локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності щурів із ішемією, мало впливаючи на вегетативний супровід реакції на стрес. Загалом, сума всіх показників на тлі застосування референс-препарату та олігопептиду КК-1 збільшилася порівняно з показником групи КП на 42 % та 40 % відповідно, наближаючись до показників псевдооперованих тварин. Олігопептид КК-5 виявив тенденцію до зниження горизонтальної та вертикальної активності щурів на 24,1 % порівняно з показником групи контролю. Такі результати корелюють із його впливом на НД, оскільки на третю та четверту добу НД на тлі застосування КК-5 мав тенденцію до незначного збільшення.

Вплив пептиду КК-1 на показники когнітивної дисфункції щурів із церебральною ішемією корелював із його здатністю зменшувати прояви НД, покращувати рухову та орієнтовно-дослідницьку активність. Так, критерію вивільнення (пірнання під край циліндра) у групі КК-1 досягло 86 % тварин, а час, витрачений ними на виконання цієї дії, зменшився на 36 % порівняно із показником групи тварин без лікування. Подібний результат продемонстрував також препарат порівняння семакс (табл. 3), зменшуючи час вивільнення з циліндра на 16,6 %. На тлі застосування олігопептиду КК-5 час, витрачений щурами для екстраполяційного вивільнення, був на 34,5 % більшим за показник групи КП, не досягаючи, однак, статистичної вірогідності.

Таким чином, олігопептид КК-1 приводить до регресу симптомів НД, покращання моторного та когнітивного компоненту нервової діяльності щурів на тлі гострого ПМК та не поступається за захисною активністю відомому церебропротектору семаксу. Захисна дія нейроактивного олігопептиду КК-5 вичерпується тільки усуненням окремих симптомів НД, який зменшується в пізніший термін, аніж на тлі семаксу або КК-1. Пептид КК-1 можна вважати найперспективнішим для подальшого доклінічного та клінічного вивчення як церебропротектора.

Висновки

1. Гостре порушення мозкового кровообігу в щурів призводить до неврологічного дефіциту, когнітивної дисфункції та зниження рухової, орієнтовно-дослідницької активності, а також збільшення емоційної лабільності в умовах стресу – характерних клінічних ознак церебральної ішемії.

2. Лікування щурів відомим церебропротектором семаксом збільшує виживаність щурів, покращує їхні когнітивні функції та сприяє регресу неврологічного дефіциту.

3. Нейропротекторна активність пептиду КК-5 обмежується тільки збільшенням виживаності щурів та зменшенням неврологічного дефіциту, яке досягає рівня референс-препарату семаксу. За показниками впливу на моторні та когнітивні функції олігопептид КК-5 поступається препарату порівняння семаксу та олігопептиду КК-1.

4. Використання олігопептиду КК-1 при ішемічному ураженні головного мозку є доцільним, оскільки він зменшує летальність та неврологічний дефіцит щурів, нормалізує показники рухової та орієнтовно-дослідницької активності, а також усуває когнітивний дефіцит. За наведеними показниками КК-1 не поступається препарату порівняння семаксу.

1. *Зозуля І. С.* Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні / І. С. Зозуля, А. І. Зозуля // Український медичний часопис. – 2011. – № 5 (85). – С. 38–41.
2. Острая церебральная недостаточность / Черний В. И., Ельский В. Н., Городник Г. А. [и др.]; Под ред. В. И. Черния. – 4-е изд., испр. и доп. – Донецк : Издатель Заславский А. Ю., 2010. – 434 с.
3. Нейропротекция: модели, механизмы, терапия / Под ред. М. Бэра; пер. с англ.; под ред. В. П. Зыкова, П. Р. Камчатнова. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 429 с.
4. Привалова А. М. Интраназальное введение – перспективный способ доставки лекарственных веществ в мозг / А. М. Привалова, Н. В. Гуляева, Т. В. Букреева // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29, № 2. – С. 93–105.
5. Стресс-протекторная активность синтетического пептида CH3CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH2 (протектина) / Ю. А. Ковалицкая, В. Б. Садовников, Ю. А. Золотарев, Е. В. Наволоцкая // Биоорг. химия. – 2009. – № 35 (4). – С. 493–500.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. докт. мед. наук А. Н. Миронова. – Часть первая. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
7. *Deacon R. M.* Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // Nature Protocols. – 2006. – V. 1, № 2. – P. 936–946.
8. *Дейко Р. Д.* Экспериментальное исследование церебропротекторных и антиамнестических свойств новых нейроактивных пептидов / Р. Д. Дейко, С. Ю. Штрыголь, А. А. Колобов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2013. – Т. 11. – С. 46.
9. *McGraw C. P.* Effect of methylprednisolone on experimental cerebral infarction in the Mongolian gerbil / C. P. McGraw, D. F. Fleming Jr., J. H. Spruil // Stroke. – 1974. – V. 5. – P. 444–446.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Видавничий дім «Авіцена», 2001. – 528 с.
11. Methods of behavior analysis in neuroscience. – London, New York, Washington : CRC Press, 2001. – 329 с.
12. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 408 с. – (издание второе).

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь, О. О. Колобов, О. Я. Міщенко

Корекція неврологічних і когнітивних порушень при церебральній ішемії оригінальними нейроактивними олігопептидами

У дослідах на щурах встановлено здатність олігопептидів структур Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide та Acetyl-(D-Lys)-Lys-(D-Arg)-Arg-amide (КК-1 та КК-5) коригувати неврологічний дефіцит і когнітивні розлади на тлі модельної церебральної ішемії. Для цього використано тести «відкрите поле» та «екстраполяційне вивільнення», а для оцінки їхнього впливу на неврологічний дефіцит – шкалу McGraw Stroke Index.

Модельне гостре порушення мозкового кровообігу характеризується високою летальністю, вираженим неврологічним дефіцитом, зниженням локомоторної та орієнтовно-дослідницької діяльності щурів, погіршанням їхніх когнітивних функцій. За умови інтраназального введення нейропептид КК-1 збільшує виживаність щурів (на 30 %), редукує неврологічний дефіцит (показник, виражений у балах, сягає рівня групи псевдооперованих тварин) і покращує когнітивні функції (збільшує число тварин, що виконують тест екстраполяційного вивільнення та зменшує час, необхідний для

його реалізації), не поступаючись за активністю референс-препарату семаксу. Антиішемічна дія олігопептиду КК-5 вичерпується тільки зменшенням неврологічного дефіциту. Максимум активності олігопептид КК-5 виявляє на 3 добу, зменшуючи неврологічний дефіцит у 10,7 разу.

За сукупністю отриманих результатів олігопептид КК-1 є перспективним для подальшого експериментального та клінічного вивчення.

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровообігу, нейроактивні олігопептиди, неврологічний дефіцит

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штрыголь, А. А. Колобов, О. Я. Мищенко

Коррекция неврологических и когнитивных нарушений при церебральной ишемии оригинальными нейроактивными олигопептидами

В опытах на крысах установлена способность олигопептидов структур Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide и Acetyl-(D-Lys)-Lys-(D-Arg)-Arg-amide (КК-1 и КК-5) корригировать неврологический дефицит и когнитивные нарушения в условиях модельной церебральной ишемии. Для этого использованы тесты «открытое поле» и «экстраполяционное избавление», а для оценки их влияния на неврологический дефицит – шкала McGraw Stroke Index.

Модельное острое нарушение мозгового кровообращения характеризуется высокой летальностью, выраженным неврологическим дефицитом, снижением локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности крыс, ослаблением когнитивных функций. В условиях интраназального введения нейропептид КК-1 увеличивает выживаемость (на 30 %), редуцирует неврологический дефицит (показатель, выраженный в баллах, достигает уровня ложнооперированных животных) и улучшает когнитивные функции, не уступая по активности референс-препарату семаксу (увеличивает количество животных, которые выполняют тест экстраполяционного высвобождения, и уменьшает время, необходимое для его реализации). Антиишемическое действие олигопептида КК-5 исчерпывается только уменьшением неврологического дефицита. Максимум активности пептид КК-5 проявляет на 3 сутки, уменьшая неврологический дефицит в 10,7 раза.

По совокупности полученных результатов олигопептид КК-1 является перспективным для дальнейшего экспериментального и клинического изучения.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, нейроактивные олигопептиды, неврологический дефицит

R. D. Deiko, S. Yu. Shtrygol', A. A. Kolobov, O. Ya. Mishchenko

The correction of neurological and cognitive disorders on the model of cerebral ischemia using original neuroactive oligopeptides

In experiments on rats on the model of cerebral ischemia it was established that oligopeptides Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide and Acetyl-(D-Lys)-Lys-(D-Arg)-Arg-amide (KK-1 and KK-5) capable to correct of neurological deficit and cognitive disorders. The tests of open field and extrapolatory deliverance as well as the scale of McGraw Stroke Index were used.

The acute cerebral ischemic stroke development characterized by high mortality, pronounced neurological deficit, decreasing of locomotor and tentatively-research activities and reducing of cognitive properties. The oligopeptide KK-1 increase of animal's survival (by 30 percent), reduce the neurological deficit and cognitive dysfunction (it means an increase the number of animals that fulfill the conditions of the extrapolation deliverance test and decreases the time, that needs the animals for implementation of test) not yielding to the activity in comparison to drug semax at intranasal administration. The oligopeptide KK-5 antiischemic action is due to decrease of neurological deficit. It has been shown that the maximally activity of KK-5 results on 3 day (reduces neurological deficit 10,7 times).

In summary, the oligopeptide KK-1 is promising compound for further experimental and clinical study.

Key words: acute cerebral ischemic stroke, neuroactive olidopeptides, neurological deficit

Надійшла: 26.01.2015 р.

Контактна особа: Дейко Роман Данилович, аспірант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002.

УДК 615.275/.276:616-002.16:616-005-98

**С. М. Дроговоз[1], С. В. Дмитренко[1],
А. Л. Штробля[2], Е. М. Вашкеба-Бітлер[2]**

Хронофармакологічні особливості дії вольтарену

*[1]Національний фармацевтичний університет, м. Харків
[2]Ужгородський національний університет*

Ключові слова: хронофармакологія, вольтарен, карагенін

З кожним роком зростає кількість звернень до лікарів з приводу захворювань, зумовлених запаленням, таких як остеоартрит, ревматоїдний артрит, ревматизм. За оцінками спеціалістів станом на 2009 рік у США на подібні ревматичні захворювання страждало близько 49 млн чоловік, у тому числі на артрит – 26,7 млн, на ревматоїдний артрит – 2,7 млн. До 2020 року очікується зростання кількості таких хворих до 59 млн [15].

Основою традиційної протизапальної терапії є нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) [6, 7, 9].

Однак, не зважаючи на широкий асортимент НПЗП, у світі продовжуються інтенсивні дослідження з пошуку нових та модифікації існуючих протизапальних ліків, а також оптимальних терапевтичних схем призначення НПЗП з метою підвищення їхньої ефективності та безпечності. Це пов'язано з тим, що сучасні НПЗП у більшості мають побічні ефекти, які обмежують їхнє застосування [1, 5].

Одним з шляхів підвищення ефективності та безпечності терапії запальних захворювань є застосування хронотерапевтичних методів, що передбачають прийом препаратів за кілька годин до акрофази (максимальної вираженості) симптомів захворювання [4, 14].

Мета дослідження – вивчити хронофармакологічні особливості дії вольтарену за умов запалення.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження була протизапальна активність препарату групи НПЗП – вольтарену (неселективного інгібітора ЦОГ) виробництва Novartis (Швейцарія), хронопортрет якого вивчали на класичній експериментальній моделі – карагеніновому набряку в щурів. Запалення (набряк) викликали субплантарним введенням 0,1 мл 1% розчину карагеніну о 22:00, так як щурам притаманний нічний хронотип життєдіяльності. Вольтарен вводили в дозі 8 мг/кг за 1 год до акрофази запального набряку [3], яка була попередньо встановлена для кожного сезону року шляхом проведення окремого досліду лише із запальним агентом. Вимірювання розмірів набряку в умовних одиницях (у. о.) проводили механічним онкометром за О. С. Захаревським, щогодинно протягом 12 год з моменту введення карагеніну.

Протизапальну активність оцінювали у відсотках за ступенем зменшення набряку у тварин, які отримували вольтарен, порівняно з групою контрольної патології [3].

При оцінці показників хронограм визначали акрофазу – час найбільшого значення набряку лапи в щура [10], амплітуду – величину набряку в період акрофази (вираховували за різницею розмірів лапи щура до й після введення карагеніну та вольтарену). Мезор (середній рівень досліджуваного показника – набряку за 1 цикл) характеризував швидкість зникнення набряку.

Досліди проводили протягом жовтня, січня, квітня та липня, оскільки в ці місяці сезонні біоритми організму найстійкіші та якнайкраще відображають стан організму, притаманний певному сезону [10, 12, 13]. Досліди були повторені тричі протягом вказаних періодів з метою виявлення можливих випадковостей та підтвердження відтворюваності результатів. Результати оброблено статистично з використанням параметричного критерію Ньюмена-Кейлса. Відмінності між показниками вважали достовірними при $p < 0,05$.

© Колектив авторів, 2015

Результати та їх обговорення. Залежно від сезону року були отримані результати, які надані на рисунках 1–4 та в таблиці.

При введенні карагеніну восени акрофазу запального набряку (55,6 ± 1,25) у. о. спостерігали на 5 год після введення карагеніну, тоді як взимку її спостерігали на 4, а весною та літом – на 3 год (рис. 1). Отже, набряк восени розвивався найповільніше порівняно з іншими сезонами, амплітуда на 5 год досліду (акрофаза) після введення карагеніну становила – (23,5 ± 1,05) у. о. Мезор величини набряку під дією карагеніну становив (43,85 ± 0,80) у. о. Зменшення набряку проходило теж повільно: набряк не зникав протягом 24 год після введення карагеніну. Активність дії вольтарену на піку запального процесу (5 год дії карагеніну) становила (63,42 ± 3,99) %, а у наступні години спостереження – у середньому (67,58 ± 0,23) %. У цілому за весь час дії восени активність вольтарену склала (67,06 ± 0,51) % (таблиця). Мезор величини набряку під дією вольтарену складав (40,38 ± 0,33) у. о., що на 3,47 у. о. менше порівняно з групою контрольної патології, що свідчить про швидкість протизапальної дії препарату.

Взимку акрофазу запального набряку спостерігали на 4 год, тобто на 1 год раніше, ніж восени, але її величина достовірно не відрізнялася від величини набряку в осінній сезон, і склала (51,5 ± 0,33) у. о. (рис. 2). Отже, набряк розвивався на 1 год швидше, ніж восени, але повільніше на 1 год, ніж весною та літом (акрофазу спостерігали на 3 год). Амплітуда набряку в акрофазу (на 4 год) становила (19,17 ± 0,61) у. о., але інтенсивність набряку була меншою порівняно з осінню та літом – (23,5 ± 1,05) у. о. і (32,14 ± 0,94) у. о. відповідно. Мезор величини набряку під дією карагеніну становив (41,92 ± 0,18) у. о., тобто достовірно не відрізнявся від осіннього показника – (43,85 ± 0,80) у. о. Набряк зменшувався найшвидше порівняно з осінньою та весняною групами: уже на 6 год досліду (через 2 год після акрофази) набряк зменшився на 7 у. о. порівняно з акрофазою, а на 12 год досліду – на 12,67 у. о., у той час як восени через 2 год після акрофази набряк зменшився на 4,1 у. о., а на 12 год досліду – на 8,6 у. о., весною – на 2,67 у. о. та на 9,92 у. о., а літом – на 6,43 у. о. та на 17 у. о. відповідно. Активність дії вольтарену на піку запального процесу становила (61,27 ± 2,62) %, а у наступні години спостереження – (67,18 ± 1,07) %. У цілому за весь час дії взимку активність вольтарену склала (66,52 ± 1,23)% (таблиця), тобто достовірно не відрізнялася від осіннього рівня. Мезор величини набряку під дією вольтарену становив (38,46 ± 0,36) у. о., що на 3,42 у. о. менше порівняно з групою контрольної патології, але достовірно не відрізнявся від осінніх показників.

Таким чином, активність досліджуваного препарату восени та взимку приблизно однакова – (67,06 ± 0,51) % і (66,52 ± 1,23) % відповідно, що свідчить про схожі механізми розвитку запального процесу та однаковий вплив на останній вольтарену, тому призначати препарат у ці сезони можна в однакових дозах (таблиця).

Весною акрофазу запального набряку спостерігали на 3 год після введення карагеніну, тобто на 1 год раніше, ніж взимку і на 2 год раніше порівняно з осіннім сезоном, її величина склала (53,75 ± 1,54) у. о. (рис. 3). Швидкість розвитку набряку була найбільшою (акрофазу спостерігали вже на 3 год після введення карагеніну, тоді як взимку – на 4, а восени – лише на 5 год), амплітуда на 3 год після введення флогогену становила (19,25 ± 1,48) у. о. Мезор величини набряку під дією карагеніну становив (44,13 ± 0,86) у. о. Набряк зменшувався найповільніше порівняно з набряком у інші сезони: через 2 год після акрофази набряк зменшився лише на 2,67 у. о. порівняно з акрофазою, тоді як восени – на 4,1 у. о., взимку – на 7 у. о., а літом – на 6,43 у. о. На 12 год спостереження набряк весною зменшився на 9,92 у. о. порівняно з акрофазою, що є дещо більшим значенням порівняно з 8,6 у. о. восени, але меншим ніж 12,67 у. о. взимку і 17 у. о. влітку. Активність дії вольтарену на піку запального процесу становила (42,13 ± 6,25) %, що є досто-

Таблиця

Сезонні хроноритми протизапальної дії вольтарену

Сезон	Активність на піку запального процесу (акрофази), %	Середня активність за весь час спостереження, %
Осінь	63,42 ± 3,99	67,06 ± 0,51
Зима	61,27 ± 2,62	66,52 ± 1,23
Весна	42,13 ± 6,25*	40,32 ± 0,62*
Літо	29,48 ± 4,93*	27,54 ± 0,34*

*Примітка. *Відмінності достовірні відносно показників осені та зими ($p < 0,05$).*

вірно меншим показником порівняно з (63,42 ± 3,99) % восени і (61,27 ± 2,62) % взимку. Загалом за весь час дії весною активність вольтарену склала (40,32 ± 0,62) %, що також є достовірно нижчим показником порівняно з (67,06 ± 0,51) % восени та (66,52 ± 1,23) % взимку (таблиця). Мезор величини набряку під дією вольтарену становив (41,17 ± 0,72) у. о., що на 2,96 у. о. менше порівняно з групою контрольної патології.

Влітку акрофазу запального набряку спостерігали на 3 год після введення карагеніну, тобто аналогічно весні, та на 1 год раніше, ніж взимку і на 2 год раніше порівняно з осіннім сезоном, її величина склала (64,00 ± 0,80) у. о. (рис. 4). Швидкість розвитку набряку була аналогічною весняному сезону (акрофазу спостерігали на 3 год після введення карагеніну, тоді як взимку – на 4, а восени – лише на 5 год). Амплітуда на 3 год після введення флогогену становила (32,14 ± 0,94) у. о. що є найбільшим показником порівняно з (19,25 ± 1,48) у. о. весною, (23,5 ± 1,05) у. о. восени і (19,17 ± 0,61) у. о. взимку. Мезор величини набряку під дією карагеніну становив (47,93 ± 0,5) у. о. Швидкість зменшення набряку достовірно не відрізнялася від зимового сезону, але була дещо більшою порівняно з весною та осінню: через 2 год після акрофази набряк зменшився на 6,43 у. о. порівняно з акрофазою, тоді як восени – на 4,1 у. о., весною – на 2,67 у. о., а взимку – на 7 у. о. На 12 год спостереження набряк влітку зменшився на 17 у. о. порівняно з акрофазою, що є

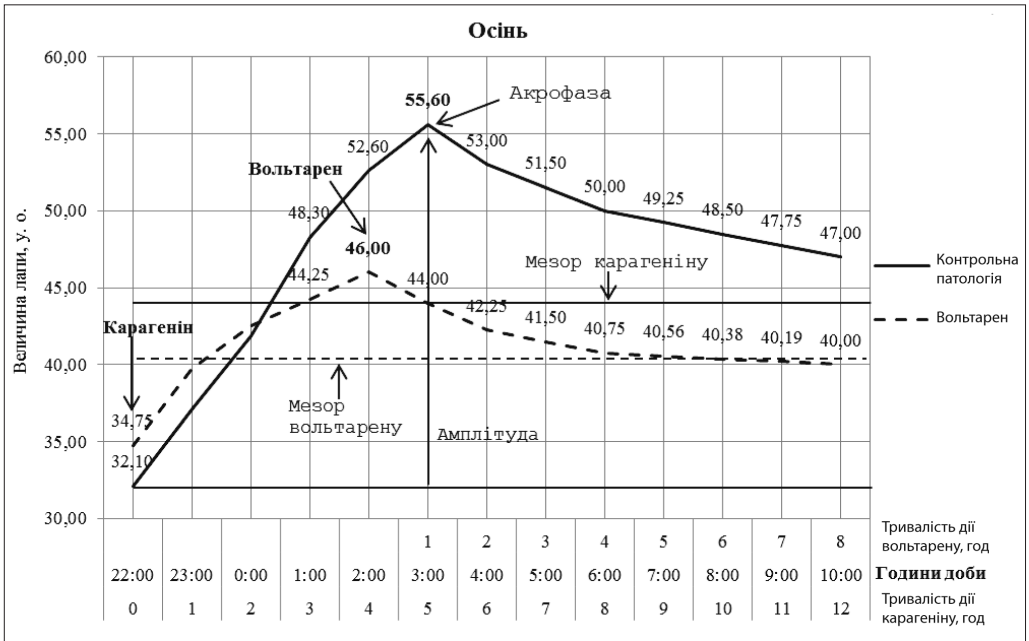


Рис. 1. Активність карагеніну та вольтарену восени

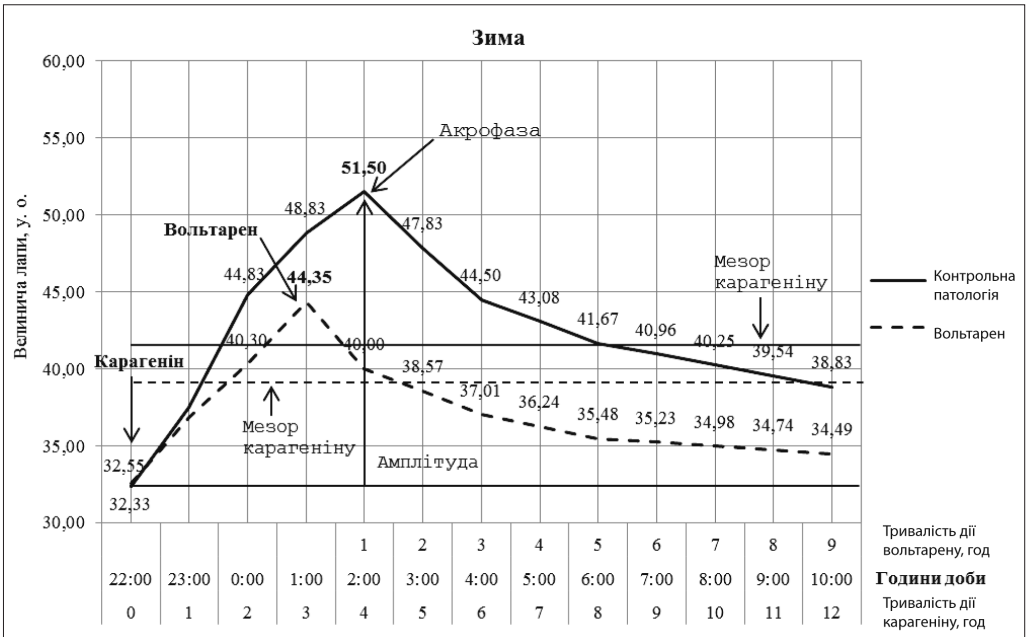


Рис. 2. Активність карагеніну та вольтарену взимку

найбільшим значенням порівняно з 8,6 у. о. восени, 12,67 у. о. – взимку і 9,92 – весною. Активність дії вольтарену на піку запального процесу становила (29,48 ± 4,93) % що є достовірно найменшим показником порівняно з (63,42 ± 3,99) % восени, (61,27 ± 2,62) % взимку і (42,13 ± 6,25) % весною. У цілому за весь час дії влітку активність вольтарену склала (27,54 ± 0,34) %, що також є достовірно найнижчим показником порівняно з (67,06 ± 0,51) % восени, (66,52 ± 1,23) % взимку і (40,32 ± 0,62) % весною (таблиця). Мезор величини набряку під дією вольтарену становив (43,84 ± 1,72) у. о., що на 4,09 у. о. менше порівняно з групою контрольної патології.

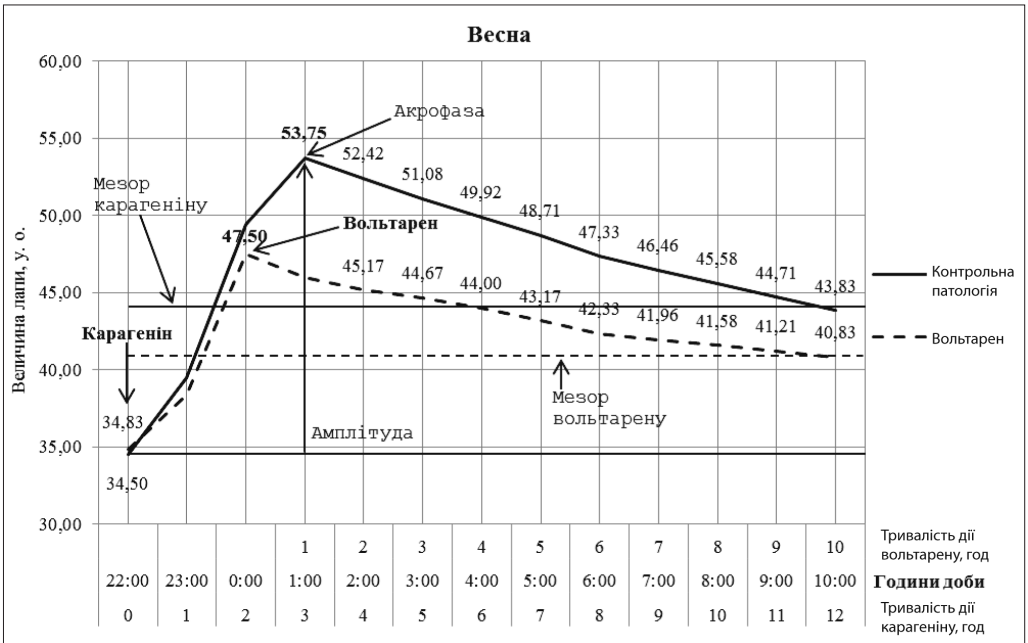


Рис. 3. Активність карагеніну та вольтарену весною

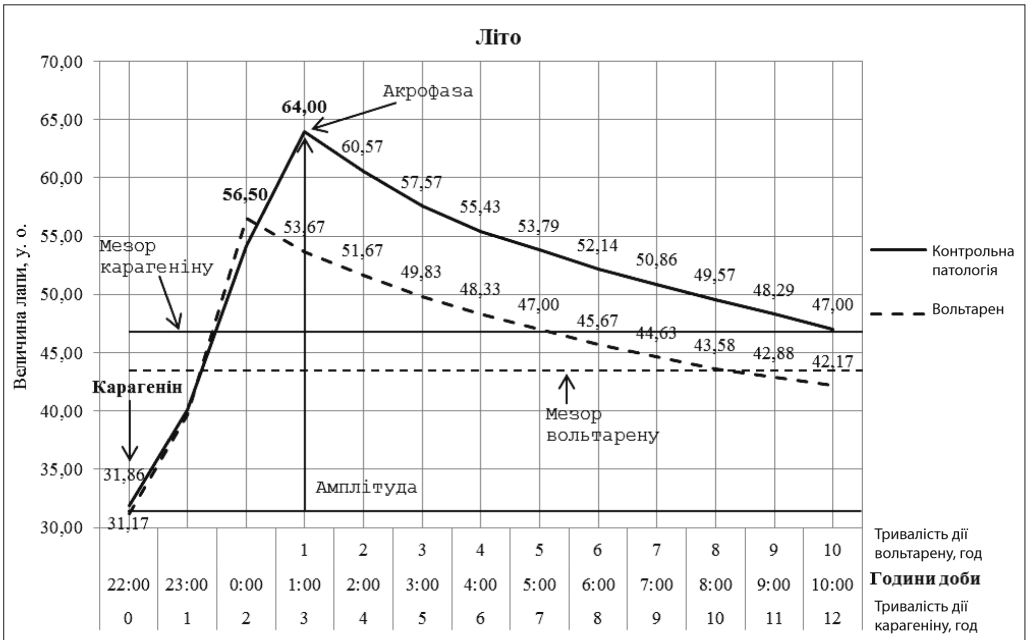


Рис. 4. Активність карагеніну та вольтарену влітку

Причини зміни активності вольтарену в різні сезони року можна пояснити особливостями біологічних ритмів мелатоніну та кортизолу. Восени й взимку, коли сонячного світла мало, мелатоніну синтезується більше [10], а ендогенних глюкокортикоїдів менше, і за рахунок цього у вольтарену зимою та восени спостерігається сильніший протизапальний ефект. Весною та літом, навпаки, мелатоніна синтезується менше, а кортизолу більше. З протизапальною дією останнього може бути пов'язано зниження ефективності вольтарену. Також весною та літом підвищується судинна проникність, механізми виникнення якої можуть не бути пов'язаними із запальним процесом, і, як наслідок, активність НПЗП буде значно менше очікуваної. Визначені хронофармакологічні особливості протизапальної дії вольтарену необхідно коректно екстраполювати на людину, враховуючи притаманний щурам нічний тип життєдіяльності.

Висновки

1. Встановлено, що протизапальна (протинабрякова) активність вольтарену приблизно однакова восени та взимку, тому препарат можна призначати в однакових дозах.

2. Весною та літом протизапальна активність вольтарену значно нижча, що може потребувати підвищення дози для досягнення необхідного ефекту або призначення інших протизапальних засобів, наприклад, глюкокортикостероїдів.

3. Раціонально продовжити вивчення хронофармакологічних особливостей не тільки вже існуючих протизапальних засобів, але й тих, що знаходяться в стадії розробки з метою оптимізації їхнього застосування для підвищення терапевтичної ефективності та мінімізації побічних ефектів.

1. *Дзяк Г. В.* Нестероидные противовоспалительные препараты / Г. В. Дзяк, А. П. Викторов, Е. И. Гришина. – К. : Морион, 1999.– 112 с.
2. *Дмитренко С. В.* Хронофармакологические аспекты терапии ревматоидного артрита / С. В. Дмитренко, С. М. Дроговоз // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених (19–20 квітня 2012 р.). – Х. : НФаУ, 2012. – 724 с. – Т. 2, С. 370.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. реком.; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.

4. *Дроговоз С. М*. Запалення – десинхроноз і його хронотерапія / С. М. Дрововоз, С. В. Дмитренко // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17, №2. – С. 40–44.
5. Клінічна фармація: підручник / І. А. Зупанець, В. П. Черних, І. Г. Купновицька [та ін.]; за ред. В. П. Черниха, І. А. Зупанця, І. Г. Купновицької. – Х. : Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2013. – 912 с.
6. *Насонова В. А.* Диклофенак натрия (вольтарен): «золотой стандарт» среди неселективных противовоспалительных препаратов / Насонова В. А. // Consilium Provisorum. – 2004. – Т. 4, № 2. – С. 16–18.
7. *Щекина Е. Г*. НПВС – проблемы безопасности / Е. Г. Щекина, С. М. Дроговоз, В. В. Страшный // Провизор. – 2003. – № 4. – С. 8–11.
8. *Щокіна К. Г.* Експериментальне обґрунтування раціонального вибору сучасних і перспективних препаратів з протизапальною дією: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармац. наук / Щокіна К. Г. – Харків, 2006 – 19 с.
9. *Штрыголь С. Ю.* Фармакологические свойства и проблемы безопасности применения НПВП – селективных и специфических ингибиторов циклооксигеназы-2 / С. Ю. Штрыголь // Провизор. – 2005. – № 2. – С. 37–42.
10. Хронофармакология наглядно (Хронофармакология в таблицах и рисунках): Справочник – учебное пособие / Дроговоз С. М., Раппопорт С. И., Кононенко А. В. [и др.]. – Харьков : Титул, 2014. – 128 с.
11. *Cutolo M.* [9] Solar lights effects on onset/relapses and circannual/circadian symptomology in rheumatoid arthritis / M. Cutolo // Clin. Exp. Rheumatol. – 2003. – № 21. – P. 148–150.
12. Domiciliary self-measurement in rheumatoid arthritis and in the demonstration of circadian rythmicity / I. C. Kowanko, M. S. Knapp, R. Pownall, A. J. Swannel // Ann. Rheum. Dis. – 1982. – № 41. – P. 453–455.
13. *Labreque G*. Circadian variation of carrageenan paw edema in the rat / G. Labreque, F. Durè, P. M. Bèlanger // Life Sci. – 1981. – № 28. – P. 1337–1343.
14. *Labrecque G.* Biological rhythms in the inflammatory response and in the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs / G. Labrecque, J. P. Bureau, A. E. Reinberg. // Pharmac. Ther. – 1995. – № 66. – P. 285–300.
15. http://www.rightdiagnosis.com/a/arthritis/stats.htm

С. М. Дроговоз, С. В. Дмитренко, А. Л. Штробля, Е. М. Вашкеба-Бітлер

Хронофармакологічні особливості дії вольтарену

Основою традиційної протизапальної терапії є нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), які тимчасово знижують інтенсивність запального процесу та проявів симптомів захворювання та не діють на причини його розвитку. Але лікування цими препаратами є недосить безпечним, оскільки сучасні НПЗП у більшості своїй мають ряд побічних ефектів. Одним з шляхів підвищення ефективності та безпечності терапії запальних захворювань є застосування хронотерапевтичних методів, що передбачають прийом препаратів за кілька годин до акрофази (максимальної вираженості) симптомів захворювання.

Мета дослідження – вивчення хронофармакологічних особливостей дії вольтарену за умов запалення.

Об'єкт дослідження – оригінальний препарат «Вольтарен». Хронопортрет вольтарену вивчали на моделі карагенінового набряку в щурів. Досліди проводили протягом жовтня, січня, квітня та липня, оскільки в ці місяці сезонні біоритми організму найстійкіші й якнайкраще відображають стан організму, притаманний певному сезону.

У результаті було встановлено, що восени акрофаза запального набряку спостерігається на 5 год після введення карагеніну, взимку на 4, а весною і літом – на 3 год, що необхідно враховувати при проведенні доклінічних досліджень та порівнянні антиексудативних і протизапальних властивостей лікарських засобів на даній моделі. Встановлено, що протизапальна активність вольтарену приблизно однакова восени та взимку – (67,06 ± 0,51) % і (66,52 ± 1,23) % відповідно, тому препарат можна призначати в однакових дозах. Весною та влітку протизапальна активність вольтарену значно нижча – (40,32 ± 0,62) % і (27,54 ± 0,34) % відповідно, що може потребувати підвищення дози для досягнення необхідного ефекту, або призначення інших протизапальних засобів.

Ключові слова: хронофармакологія, вольтарен, карагенін

С. М. Дроговоз, С. В. Дмитренко, А. Л. Штробля, Е. М. Вашкеба-Битлер

Хронофармакологические особенности действия вольтарена

Основой традиционной противовоспалительной терапии являются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), которые временно снижают интенсивность воспалительного процесса и проявление симптомов заболевания и не действуют на причины его развития. Но, лечение этими препаратами недостаточно безопасное, поскольку современные НПВП имеют ряд побочных эффектов. Одним из путей повышения эффективности и безопасности НПВП-терапии является применение хронотерапевтических методов, предусматривающих прием препаратов за несколько часов до акрофазы (максимальной выраженности) симптомов заболевания.

Цель исследования – изучение хронофармакологических особенностей действия вольтарена при воспалении.

Объектом исследования был оригинальный препарат – вольтарен, хронопортрет которого изучали на модели каррагенинового отека у крыс. Опыты проводили в течение октября, января, апреля и июля, поскольку в эти месяцы сезонные биоритмы организма наиболее устойчивы и наилучше отражают состояние организма, присущее определенному сезону.

В результате установлено, что осенью акрофаза воспалительного отека наблюдается на 5 ч после введения каррагенина, зимой – на 4, а осенью – на 3 ч, что необходимо учитывать при проведении доклинических исследований и сравнения антиэкссудативных и противовоспалительных свойств лекарственных средств на данной модели. Установлено, что противовоспалительная активность вольтарена примерно одинакова осенью и зимой – (67,06 ± 0,51) % и (66,52 ± 1,23) % соответственно, поэтому препарат можна назначать в одинаковых дозах. Весной и летом противовоспалительная активность вольтарена значительно ниже – (40,32 ± 0,62) % и (27,54 ± 0,34) % соответственно, что может потребовать повышения дозы для достижения необходимого эффекта, или назначение других противовоспалительных средств.

Ключевые слова: хронофармакология, вольтарен, каррагенин

S. M. Drogovos, S. V. Dmytrenko, A. L. Shtroblya, E. M. Vashkeba-Bitler

Chronopharmacological features of voltaren's action

The basis of traditional antiinflammatory therapy is nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs), which temporarily reduce the intensity of inflammation and disease symptoms but cause no effect on the reason of its development. However, treatment with these drugs is not enough safe since modern NSAIDs for the most part have a number of side effects. One way to improve the efficiency and safety of the treatment of inflammatory diseases is chronotherapy that presupposes taking medication a few hours before acrophase (maximum severity) of diseases symtoms.

The purpose of this study was to investigate the chronopharmacological features of action of voltaren under inflammation.

The object of the study was the original product – voltaren, whose chronoportrait was studied using carrageenan-induced paw edema in rats. Experiments were carried out in October, January, April and July, because during these months seasonal biorhythms of the body are the most stable and reflect the season-specific state of the organism in the best way.

As a result, it was found that during autumn period acrophase of inflammatory edema observed at 5 hours after administration of carrageenan; at winter time – at 4 hours, at spring and at summer – at 3 hours. These data must be considered for preclinical research and comparison of antiexudative and antiinflammatory properties of the drugs in this model. It has been established that antiinflammatory activity of voltaren appears to be similar during autumn and winter – (67,06 ± 0,51) % and (66,52 ± 1,23) %, respectively. So, these drug must be administered in the same doses. During spring and summer times voltaren's anti-inflammatory activity is much lower – (40,32 ± 0,62) % and (27,54 ± 0,34), respectively. Thus we need to increase the dose to achieve the desired effect or use other antiinflammatory medicines.

Key words: chronopharmacology, voltaren, carrageenan

Надійшла: 19.12.2014 р.

Контактна особа: Дмитренко Сергій Володимирович, старший лаборант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61140.
Тел.: + 38 0 98 599 54 98. Електронна пошта: svdmytrenko@mail.ru

УДК 577.126:57.042

А. Л. Загайко, Т. А. Брюханова, Ю. И. Кочубей, М. А. Мусмари, С. Н. Коваленко

Экспериментальное исследование фармакологической активности новых ингибиторов JNK

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Ключевые слова: JNK, инсулинорезистентность, сахарный диабет 2 типа, апоптоз, митоген-активируемые протеинкиназы, оксидативный стресс

Научные исследования последних лет в области медико-биологических наук направлены на изучение молекулярных механизмов развития повреждений и адаптации клеточных систем при патологических состояниях различного генеза. Основное внимание исследователей сконцентрировано на изучении механизмов регуляции апоптоза и дисбаланса окислительного метаболизма, которые составляют основу целого ряда заболеваний и патологических состояний [6].

Согласно данным литературы, развитие окислительного стресса вследствие интенсификации процессов свободно-радикального окисления приводит к генерации активных форм кислорода (АФК), что при дисфункции антиоксидантной системы обусловливает нарушения функционирования редокс-чувствительных внутриклеточных систем регуляции апоптоза, к которым относятся MAP-киназы: JNK и p38 [7–8].

JNK или c-Jun N-терминальные киназы – это группа серин-треониновых, стресс-активируемых протеинкиназ, которые участвуют в регуляции роста, дифференцировки, апоптоза, воспаления и других важных клеточных процессов. Активация JNK провоцируется накоплением АФК, цитокинов и т. д. и принимает непосредственное участие в патогенезе инсулинорезистентности (ИР), сахарного диабета 2 типа, метаболического синдрома, атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и других патологий, коррелирующих с этими состояниями [3, 5].

В развитии ИР выделяют четыре основных механизма: избыточное нерациональное питание и гиподинамия, ожирение, воспаление и стресс. Однако все перечисленные компоненты в конечном итоге реализуются в клетках по единому механизму: фосфорилированием непосредственного субстрата инсулинового рецептора – белка IRS (insulin receptor substrate), что обеспечивается разными протеинкиназами (AMPK, JNK1, IKK, S6K1, mTorC1, PKC). Нарушения в системе инсулиновой сигнализации на уровне белка IRS – основная причина резистентности к инсулину на клеточном уровне [2, 4]. Поскольку механизмы развития ИР связаны с активностью MAP-зависимой JNK, фосфорилирующей IRS, эффективным методом коррекции ИР может быть применение ингибиторов c-Jun N-терминальной киназы. В предварительных исследованиях *in vitro* было показано, что новые производные хиназолинов (соединения с шифрами 003, 004, 006), синтезированные в Национальном фармацевтическом университете под руководством профессора С. Н. Коваленко, проявляют JNK-ингибирующую активность.

Цель исследования – изучение активности новых производных хиназолинов при экспериментальной инсулинорезистентности у крыс.

Материалы и методы. В качестве экспериментальных животных использовали крыс-самцов линии Wistar. Инсулинорезистентность моделировали содержанием животных на диете, обогащенной фруктозой (60,3 % фруктозы,

© Колектив авторів, 2015

18,3 % белка, 5,2 % жира), что сопровождалось развитием ожирения, нарушениями углеводного и липидного видов обмена [1]. Опытные животные массой 180–220 г были разделены на 8 экспериментальных групп (по 10 животных в каждой): интактный контроль (ИК) (животных содержали на стандартном рационе вивария ЦНИЛ НФаУ); контрольная патология (КП) (6 недель на фруктозной диете); КП+003 (4 недели на фруктозной диете и еще 2 недели на данной диете с ежедневным введением суспензии исследуемого вещества 003); КП+004 (4 недели на фруктозной диете и еще 2 недели на данной диете с ежедневным введением суспензии исследуемого вещества 004); КП+006 (4 недели на фруктозной диете и еще 2 недели на данной диете с ежедневным введением суспензии исследуемого вещества 006); 003 (4 недели на стандартном рационе и 2 недели получали суспензию исследуемого вещества 003); 004 (4 недели на стандартном рационе и 2 недели получали суспензию исследуемого вещества 004); 006 (4 недели на стандартном рационе и 2 недели получали суспензию исследуемого вещества 006). Животных декапитировали под хлоразоло-уретановым наркозом. Объектами исследования были сыворотка крови и гомогенат печени.

Исследования проводили в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001), с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) и Этическим Кодексом Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинская декларация, 1964).

Содержание глюкозы, свободных жирных кислот (СЖК) и триацилглицеролов (ТАГ) определяли с использованием стандартных наборов фирмы «Фелісит-Діагностика» (Украина) и фирмы «Lachema» (Чехия). Содержание ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) определяли спектрофотометрически с помощью реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [9]. Содержание восстановленного глутатиона определяли спектрофотометрически по реакции с аллоксаном [9]. Уровень иммунореактивного инсулина (ИРИ) в сыворотке крови определяли с помощью стандартного набора «Рио-ИНС-ПГ-125I» (Беларусь) методом радиоиммунологического анализа «*in vitro*».

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы STATISTICA (StatSoftInc., США, версия 6.0). Значимость межгрупповых различий оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Содержание крыс на диете с повышенным содержанием фруктозы в течение 6 недель приводило к почти двукратному увеличению уровня глюкозы в сыворотке крови животных группы КП. Аналогичную тенденцию наблюдали и в содержании ИРИ – его количество в группе КП в 1,4 раза выше, чем у интактных животных (табл. 1). На фоне гипергликемии это свидетельствует о развитии ИР – резком снижении афинности рецепторов клеток к действию инсулина. Введение исследуемых веществ предупреждало патологические изменения показателей гликемии и ИРИ в крови животных, которые получали высокофруктозную диету. При этом субстанция 006 проявила наиболее выраженное положительное влияние на содержание глюкозы и инсулина – это единственное соединение, которое достоверно снижало уровень ИРИ относительно группы КП и максимально нормализовало уровень глюкозы (достоверно не отличался от ИК).

Одновременно с гипергликемией и ИР у исследуемых животных развивались нарушения липидного обмена – наблюдали повышение в 3,5 раза уровня СЖК и в 3,4 раза – ТАГ (табл. 1). Это, вероятно, обусловлено ослаблением ингибирующего действия инсулина на процесс липолиза, что, в свою очередь, приводило к мобилизации жира из жировой ткани и активации синтеза атерогенной фракции – липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Повышение уровня СЖК в крови приводило в дальнейшем к усилению

гипергликемии и усугублению ИР, что обусловливало более тяжелое течение сахарного диабета. Развитие атерогенной дислипидемии провоцирует возникновение осложнений в виде прогрессирования атеросклероза и повышенного риска сердечно-сосудистых патологий.

Согласно данным литературы, в патогенезе ряда заболеваний и патологических состояний (в том числе сахарного диабета 2 типа и ИР) одну из ключевых ролей играет интенсификация процессов свободно-радикального окисления, что, в свою очередь, приводит к усилению образования и накоплению АФК, развитию окислительного стресса. Генерация АФК приводит к нарушениям функционирования редокс-чувствительных внутриклеточных систем регуляции апоптоза – митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК): JNK и p38. Одной из мишеней для действия АФК является активация JNK-сигнального пути, что приводит к нарушению про- и антиоксидантного равновесия.

Увеличение содержания в крови СЖК также приводит к генерации АФК и усилению процессов свободно-радикального окисления. Поэтому следующим этапом исследования было изучение влияния исследуемых веществ на содержание маркеров антиоксидантно-прооксидантного статуса (ВГ и ТБК-АП) в гомогенате печени животных (табл. 2).

Развитие ИР у подопытных животных приводило к нарушению прооксидантно-актиоксидантного равновесия, что подтверждалось увеличением содержания ТБК-АП продуктов на 75 % и снижением уровня антиоксиданта – восстановленного глутатиона (ВГ) на 23 % по сравнению с показателями группы ИК (табл. 2). Ни одно из исследуемых веществ не вызывало достоверного повышения содержания ВГ в гомогенате печени, что свидетельствовало об отсутствии у них выраженного влияния на этот маркер антиоксидантной защиты. Введение исследуемых соединений приводило к некоторому уменьшению содержания ТБК-АП в гомогенате печени крыс с ИР, однако этот показатель достоверно отличался от аналогичного как у животных группы ИК, так и животных группы КП. Полученные результаты на фоне отсутствия влияния исследуемых веществ на содержание ВГ, по нашему мнению, нельзя рассматривать как проявление эффективной антиоксидантной активности. Это позволяет предположить у изученных веществ механизм действия, базирующийся на ингибировании JNK, а не на непосредственном стабилизирующем действии в отношении мембраны

Таблица 1

Содержание глюкозы, иммунореактивного инсулина, свободных жирных кислот и триацилглицеролов в сыворотке крови при экспериментальной инсулинорезистентности и введении исследуемых веществ (M ± m, n = 10)

ИК	КП	КП+003	КП+004	КП+006	003	004	006
Глюкоза, ммоль/л							
5,4 ± 0,1	9,1 ± 0,2*	7,5 ± 0,3**	7,9 ± 0,2**	6,8 ± 0,2**	5,8 ± 0,3	6,0 ± 0,2	5,6 ± 0,2
Иммунореактивный инсулин, пмоль/л							
115,21 ± 10,75	166,45 ± 14,15	135,45 ± 111,55	142,15 ± 12,35	118,25 ± 10,85**	128,35 ± 10,10	120,10 ± 111,55	116,25 ± 10,15
Свободные жирные кислоты, ммоль/л							
0,39 ± 0,04	1,35 ± 0,12*	0,61 ± 0,02**	0,92 ± 0,04**	0,45 ± 0,03**	0,46 ± 0,03	0,49 ± 0,03	0,40 ± 0,02
Триацилглицеролы, ммоль/л							
0,92 ± 0,05	3,13 ± 0,11*	1,36 ± 0,11**	1,66 ± 0,13**	1,22 ± 0,12**	0,99 ± 0,08	1,11 ± 0,05	0,94 ± 0,07

*Примечание. Здесь и в табл. 2: *отклонение достоверно относительно ИК ($p \le 0,05$), **отклонение достоверно относительно КП ($p \le 0,05$).*

Таблица 2

Содержание восстановленного глутатиона, ТБК-активных продуктов в гомогенате печени крыс при экспериментальной инсулинорезистентности и/или введении исследуемых веществ (M ± m, n = 10)

ИК	КП	КП+003	КП+004	КП+006	003	004	006
Восстановленный глутатион, мг/г							
0,91 ± 0,07	0,70 ± 0,04*	0,82 ± 0,06	0,85 ± 0,08	0,79 ± 0,05	0,90 ± 0,07	0,89 ± 0,07	0,91 ± 0,08
ТБК-активные продукты, нмоль/г							
2,94 ± 0,28	5,15 ± 0,25*	3,89 ± 0,12*/**	4,15 ± 0,18*/**	3,75 ± 0,12*/**	2,98 ± 0,13	3,01 ± 0,23	2,93 ± 0,14

митохондрий. Такой механизм действия обусловливает спектр фармакологической активности исследуемых соединений: уменьшение степени выраженности ИР и нормализацию показателей липидного обмена на фоне модельной патологии. Подтверждением предполагаемого механизма действия данных веществ также является отсутствие их влияния на изучаемые показатели у интактных животных. Таким образом, свою активность они проявляют только при состояниях, которые сопровождаются активацией JNK.

Выводы

1. Содержание животных на диете, обогащенной фруктозой, приводит к гипергликемии и развитию ИР. Это патологическое состояние сопровождается нарушениями липидного обмена (повышение содержания СЖК и ТАГ в сыворотке крови) и изменением антиоксидантно-прооксидантного статуса (увеличение содержания ТБК-АП и уменьшение уровня ВГ).

2. Введение животным с экспериментальной моделью гипергликемии новых производных хиназолинов (003, 004, 006), которые в скрининговых исследованиях *in vitro* проявляли JNK-ингибирующую активность, приводило к нормализации показателей гликемии и содержания ИРИ в сыворотке крови, коррекции показателей липидного обмена. Среди всех исследованных соединений максимальную эффективность на фоне высокофруктозной диеты проявило вещество под шифром «006».

3. Новые производные хиназолинов не обладали выраженными антиоксидантными свойствами при введении животным с экспериментальной моделью гипергликемии, что подтверждает предполагаемый механизм их действия – ингибирование JNK.

4. Поскольку все изученные соединения не оказывали влияния ни на один из исследуемых показателей у интактных животных, а реализовали свое действие только на фоне состояния, которое сопровождалось активацией JNK (ИР), можно рекомендовать их использование для коррекции состояний, патогенез которых сопровождается активацией JNK-сигнального пути.

1. Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue / M. Altas, A. Var, K. Ozbilgin [et al.] // Dicle University Med School. – 2010. – V. 37, № 3. – P. 193–198.
2. Hypothalamic and pituitary c-Jun N-terminal kinase 1 signalingcoordinately regulates glucose metabolism / Belgardt B. F., Mauer J., Wunderlich F. T. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2010. – V. 107. – P. 6028–6033.
3. c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling: recent advances and challenges / M. A. Bogoyevitch, K. R. Ngoei, T. T. Zhao [et al.] // BiochimBiophysActa. – 2010. – V. 1804, № 3. – P. 463–475.
4. *Cheng Z.* Insulin signaling meets mitochondria in metabolism/ Cheng Z., Tseng Y. and White M. F. // Trends Endocrinol. Metab. – 2010. – V. 21. – P. 589–598.
5. *Karpac J.* Insulin and JNK: optimizing metabolichomeostasis and lifespan / Karpac J. and Jasper H. // Trends Endocrinol. Metab. – 2009. – V. 20. – P. 100–106.
6. *Reed J. C.* Apoptosis: physiology and pathology / J. C. Reed, D. R. Green. — Cambridge : Cambridge University Press, 2011. – P. 421.

7. *Seki E.* A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches / E. Seki, D. A. Brenner, M. Karin / Gastroenterology. – 2012. – V. 143, № 2. – P. 307–320.
8. Роль редокс-зависимых сигнальных систем в регуляции апоптоза при окислительном стрессе / Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий, Н. Ю. Часовских [и др.] // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 4. – С. 329–334.
9. *Строев Е. А.* Практикум по биологической химии / Строев Е. А., Макарова В. Г. – М. : Высшая школа, 1986. – 231 с.

А. Л. Загайко, Т. А. Брюханова, Ю. И. Кочубей, М. А. Мусмари, С. Н. Коваленко

Экспериментальное исследование фармакологической активности новых ингибиторов JNK

JNK или c-JunN-терминальные киназы – это группа стресс-активируемых протеинкиназ, которые принимают участие в процессе апоптоза, дифференцировке клеток и регуляции окислительного метаболизма, что играет важную роль в патогенезе ряда заболеваний и патологических состояний. Активация JNK непосредственно сопровождает формирование инсулинорезистентности (ИР), сахарного диабета 2 типа, метаболического синдрома, атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний. Основной механизм развития ИР на клеточном уровне – нарушения в системе инсулиновой сигнализации на уровне белка IRS (insulin receptor substrate). Потому применение ингибиторов JNK, ферментов, которые фосфорилируют IRS, может быть одним из наиболее эффективных методов коррекции этого состояния. В скрининговых исследованиях *in vitro* показано наличие JNK – ингибирующей активности у новых производных хиназолинов.

Цель исследования – изучение фармакологической активности новых производных хиназолинов при экспериментальной инсулинорезистентности у крыс.

Инсулинорезистентность моделировали содержанием крыс на высокофруктозной диете. Изучали влияние исследуемых соединений на содержание глюкозы, иммунореактивного инсулина, показатели липидного обмена в сыворотке крови животных и на маркеры антиоксидантно-прооксидантного статуса в гомогенате печени.

У животных, которые содержались на высокофруктозной диете, наблюдалось значительное увеличение уровня глюкозы и иммунореактивного инсулина в сыворотке крови, увеличение содержания триацилглицеридов и свободных жирных кислот. Введение исследуемых производных хиназолина приводило к нормализации вышеупомянутых показателей, среди которых наибольшую эффективность проявило соединение под номером «006». Изученные вещества не проявляли значимого влияния на антиоксидантную систему, что объясняется их предполагаемым механизмом действия – ингибированием JNK.

Поскольку данные вещества не влияли на исследуемые показатели у интактных животных, а проявляли свою активность только в условиях активации JNK, их можно рассматривать в качестве перспективных корректоров патологических состояний, в патогенез которых включены сигнальные механизмы JNK.

Ключевые слова: JNK, инсулинорезистентность, сахарный диабет 2 типа, апоптоз, митоген-активируемые протеинкиназы, оксидативный стресс

А. Л. Загайко, Т. О. Брюханова, Ю. І. Кочубей, М. А. Мусмарі, С. М. Коваленко

Експериментальне дослідження фармакологічної активності нових інгібіторів JNK

JNK або c-JunN-термінальні кінази – це група серин-треонінових, стрес-активованих протеїнкіназ, що беруть участь у процесах апоптозу, диференціюванні клітин та регуляції окисного метаболізму, що відіграє важливу роль у патогенезі низки патологічних станів та розвитку ряду захворювань. Активація JNK безпосередньо супроводжує розвиток інсулінорезистентності (ІР), цукрового діабету 2 типу, метаболічного синдрому, атеросклерозу та серцево-судинних захворювань. Основний механізм розвитку ІР на клітинному рівні – порушення в системі інсулінової сигналізації на рівні білка IRS (insulin receptor substrate). Тому застосування інгібіторів JNK, що фосфорилюють IRS, може бути одним із найефективніших методів корекції цього стану. У попередніх дослідженнях *in vitro* показано наявність JNK-інгібуючої активності в нових похідних хіназолінів.

Мета дослідження – вивчення фармакологічної активності нових похідних хіназолінів за експериментальної інсулінорезистентності у щурів.

Інсулінорезистентність моделювали утриманням щурів на збагаченій фруктозою дієті. Вивчали вплив досліджуваних похідних хіназоліну на вміст глюкози, імунореактивного інсуліну, показники ліпідного обміну в сироватці крові тварин та на маркери антиоксидантно-прооксидантного статусу в гомогенаті печінки.

У тварин, яких утримували на високофруктозній дієті, спостерігали значне підвищення рівня глюкози та імунореактивного інсуліну в сироватці крові, збільшення вмісту тріацилгліцеролів та вільних жирних кислот. Введення досліджуваних речовин призводило до нормалізації вищезазначених

показників, серед яких найбільшу ефективність виявила сполука під номером «006». Вивчені речовини не виявили значущого впливу на антиоксидантну систему, що пояснюється їх передбачуваним механізмом дії – інгібуванням JNK.

Оскільки дані сполуки не чинили впливу на досліджувані показники в інтактних тварин, а виявляли свою дію тільки за умов активації JNK, їх можна розглядати як перспективні коректори патологічних станів, до патогенезу яких залучені сигнальні механізми JNK.

Ключові слова: JNK, інсулінорезистентність, цукровий діабет 2 типу, апоптоз, мітоген-активовані протеїнкінази, оксидативний стрес

A. L. Zagayko, T. A. Briukhanova, Y. I. Kochubey, M. A. Musmari, S. N. Kovalenko

Experimental research of JNK new ingibitors' pharmacological activity

JNK or c-JunN-terminal kinases are the groups of serine-threonine stress-activated protein kinases that take part in apoptosis, cells differentiation and oxydative metabolism regulation, which play an important role in the pathogenesis of several diseases and pathological conditions. JNK activation is also associated with development of insulin resistance (IR), type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, atherosclerosis and cardiovascular diseases. The main IR pathogenesis at a cellular level is insulin signaling system disorder at the IRS protein level (insulin receptor substrate). So the use of inhibitors of JNK, enzymes that phosphorylate IRS, may be one of the most effective methods of this state correction. *In vitro* scrining studies demonstrated the presence of JNK – inhibitory activity in the new quinazoline derivatives.

The aim of this research was to study pharmacological activity of new synthesized quinazoline derivatives under modelling of insulin resistance on rats.

Insulin resistance was modeled by animal housing on enriched fructose diet. The influence of the test substances on the glucose content, immunoreactive insulin level, lipid metabolism parameters at animals' blood serum and on the markers of antioxidant-prooxidant status in rat liver homogenate was studied.

There were observed a significant increase in glucose, immunoreactive insulin, triacylglycerol and free fatty acids levels in blood serum of rats, receiving high fructose diet. Injections of test substances carried out to the above mentioned parameters normalization. The highest efficiency among all test substances showed the compound with the number of «006».The studied substances didn't show significant influence on antioxidant system that can be explained by the predictable mechanism of action – JNK inhibition.

As these substances didn't have an effect on the studied parameters in the intact animals and exhibit their activity under the conditions of JNK activation only, they can be considered as prospective malconditions correctors that have JNK signaling system in the pathogenesis.

Key words: JNK, insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, apoptosis, mitogen-activated protein kinases, oxidative stress

Поступила: 08.12.2014 г.

Контактное лицо: Загайко А. Л., Национальный фармацевтический университет, д. 12, ул. Мельникова, г. Харков, 61140.

УДК 616.36-002:616-01

Е. А. Калько, С. М. Дроговоз, Л. Б. Иванцик

Влияние циркадианных и сезонных биоритмов на активность ферментов цитолиза у интактных крыс

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Ключевые слова: печень, циркадианный ритм, сезонный ритм, ферменты цитолиза

С развитием хронофизиологии, хронопатологии и хронофармакологии особенное внимание в экспериментальной и клинической фармакологии уделяется оценке влияния циркадианных и сезонных ритмов на деятельность организма. Биологические ритмы охватывают широкий диапазон периодов – от долей секунды на молекулярном уровне до многих лет на надорганизменном уровне [1, 2]. Молекулярные часы имеют все клетки организма и они состоят из эволюционно консервативных часовых генов и их белков (белки часовых генов (clock-genes-proteins)) [3]. За счет наличия фоточувствительного PAS-домена – активность clock-genes-proteins (а именно Cry, Per 1, Per 2, Clock и др.) зависит от светового освещения. Функции белков часовых генов многообразны, особый интерес вызывает их участие в регуляции клеточного цикла и апоптоза [4].

Ведущая роль в реализации циркадианных ритмов принадлежит гормональной системе. Под контролем тех или иных гормонов находится активность большинства ферментов [5, 6].

Еще в 50–60 годах прошлого столетия зарубежными и отечественными исследователями получены данные относительно кортикостероидной индукции ферментов: триптофаноксигеназы и тирозинаминотрансферазы: активность этих ферментов в печени крысы возрастает (в 7–10 раз) после введение кортизона или гидрокортизона с характерной акрофазой на 4–5 часов после введения гормонов. Сходные данные были получены также *in vitro* на изолированных гепатоцитах [5, 7].

© Колектив авторів, 2015

Также рядом ученых изучено влияние кортизола, кортизона и тироксина на активность АлАТ и АсАТ в гепатоцитах крыс и установлено повышение активности данных ферментов в клетках печени под действием этих гормонов [7].

Следовательно, активность ферментов во многом зависит от гормонального фона, который подвержен суточным и сезонным колебаниям [1]. Циркадианные и сезонные ритмы гормонов в свою очередь связаны с уровнем освещенности в течение суток или года. Так, максимум секреции мелатонина, гормона эпифиза, приходится на ночь и темное время года. Активность эпифиза находится в обратной зависимости от деятельности гипофиза: чем выше содержание мелатонина у крыс, тем ниже уровень глюкокортикостероидов (ГКСТ), и наоборот [1, 2].

Общеизвестно, что АлАТ и АсАТ – ферменты клеточного метаболизма, которые участвуют в процессах переноса аминогрупп от аминокислот на кетокислоты (реакция трансминирования). АлАТ локализуется преимущественно в цитозоле, тогда как АсАТ – цитозольный и митохондриальный фермент (с митохондриями связано около 40 % ферментов).

Определение активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови – важный маркер в диагностике патологических процессов. Однако и у здоровых людей значения этих показателей подвержены суточным и сезонным колебаниям, что обусловлено особенностями биохимических процессов на уровне клеток, тканей, органов, систем и организма в целом [5, 7].

Повышение активности АлАТ или АсАТ в сыворотке крови тесно коррелирует с изменением их активности в

клетках печени. В физиологических условиях повышение активности клеточных ферментов в сыворотке крови может быть обусловлено:

- эндогенной индукцией ферментов гормонами;
- выходом ферментов цитолиза в межклеточное пространство в результате повышения проницаемости клеточных мембран или активизации апоптоза [1].

Следовательно, активность АлАТ и АсАТ колеблется в зависимости от времени суток и сезона года. Данные о влияние биологических ритмов на активность этих ферментов в экспериментальной фармакологии очень важны для анализа патологических изменений при моделировании патологии и также при доклиническом изучении перспективных лекарств. Значение хронопортрета препаратов является основой адекватного режима их дозирования для эффективной и безопасной фармакотерапии.

Цель исследования – изучение влияния сезонных и циркадианных биоритмов на активность ферментов цитолиза у интактных крыс.

Материалы и методы. Исследование проводили на половозрелых крысах-самцах массой 250–350 г в четыре сезона года. Животных подвергали эвтаназии с дальнейшим получением сыворотки крови в четыре сезона: зима (февраль 2014 года); весна (апрель 2014 года); лето (июль 2014 года); осень (октябрь 2014 года). В каждом сезоне была утренняя (10 ч) и вечерняя группа (22 ч) по 6–8 животных в каждой. Забор крови повторяли трижды в каждом сезоне с целью исключения погрешности исследования. В течение апреля, июля и октября сезонные ритмы организма наиболее стойкие и лучше всего отображают состояние организма, характерное для определенного сезона. В сыворотке крови определяли активность АлАТ, АсАТ (тест-наборы «Филисит-Диагностика», Украина) и вычисляли коэффициент де Ритиса [9, 10].

Среди полученных экспериментальных данных в выше указанные сезоны дифференцировали акрофазу (максимальное значение показателя), мезор (среднее значение показателя) и батифазу (минимальное значение показателя) [1].

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью стандартного пакета статистических программ «Statistica 6,0». Применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. При сравнении статистических показателей был принят уровень значимости $p < 0,05$ [11].

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлены отличия показателей функциональной активности печени интактных крыс в зависимости от сезона года и времени суток.

Согласно экспериментальным данным, прослеживаются колебания активности АлАТ и АсАТ в течение года. В частности, батифаза активности АлАТ – весна (утро – 1,1 ± 0,06; вечер – 1,54 ± 0,07), тогда как в остальные сезоны года активность АлАТ находится практически на одном уровне утром и вечером (таблица). Что касается активности АсАТ – акрофаза значений утром и вечером – осенне-зимний период, батифаза, как и для АлАТ – весной, а мезор показателя – летом (таблица).

Значения коэффициентов де Ритиса не имеют достоверных различий между сезонами года и временем суток (таблица).

Что касается влияния циркадианных ритмов, то у животных статистически достоверно повышена активность ферментов цитолиза АлАТ и АсАТ вечером (22 ч) относительно утра (10 ч) во все сезоны года (таблица). Данная закономерность обусловлена циркадианным состояниям гипоталамо-гипофизарно-надпочечной системы. В частности, известно, что у крыс акрофаза выделения АКТГ и ГКСТ приходится на первые 3–4 часа темной фазы суток, что соответствует активному периоду их функционирования. Кроме того, синтез и секреция мелатонина (акрофаза – 2 ч ночи) также повышается с наступлениям темноты. В норме активность эпифиза находится в обратной зависимости от деятельности гипофиза и регулируется посредством ингибирующего влияния мелатонина на синтез АКТГ. Поэтому вечернее повышение активности ферментов цитолиза у

Таблица

Влияние циркадианных и сезонных биоритмов на активность ферментов цитолиза в сыворотке крови

Время суток	Осень	Зима	Весна	Лето
Длительность фотопериода в течение суток, ч	10	10	14	16
	АлАТ, ммоль/ч·л			
Утро	1,70 ± 0,08	1,46 ± 0,17	1,10 ± 0,06	1,37 ± 0,09
Вечер	1,98 ± 0,17	1,92 ± 0,12	1,54 ± 0,07	2,12 ± 0,20
Разница значений вечерних показателей относительно утренних, %	+ 16	+ 31*	+ 40*	+ 55*
	АсАТ, ммоль/ч·л			
Утро	1,58 ± 0,13	1,34 ± 0,05	0,95 ± 0,04	1,11 ± 0,07
Вечер	1,86 ± 0,05	1,60 ± 0,04	1,09 ± 0,02	1,19 ± 0,10
Разница значений вечерних показателей относительно утренних, %	+ 18*	+ 19*	+ 15*	+ 7
	Коэффициент де Ритиса			
Утро	0,95 ± 0,13	1,01 ± 0,12	0,88 ± 0,03	0,95 ± 0,06
Вечер	0,96 ± 0,06	0,85 ± 0,05	0,72 ± 0,04	0,74 ± 0,10

*Примечание. *Достоверные отличия вечерних показателей относительно утренних, $p \leq 0,05$.*

интактных крыс совпадает с вечерней акрофазой секреции ГКСТ, которые способствуют повышению активности АлАТ и АсАТ в клетках печени [1].

Кроме того, в хронобиологии хорошо известно, что синтез и секреция мелатонина зависят от длительности темной фазы суток, чем короче фотопериод, тем выше его уровень и наоборот: уровень ГКСТ находится в обратно пропорциональной зависимости от мелатонина.

Разница вечерних показателей относительно утренних для АлАТ увеличивается в ряду осень – зима – весна – лето (16 % – 31 % – 40 % – 55 %), что совпадает с сезонным увеличением уровня ГКСТ и может быть обусловлено выше указанной индукцией ферментов ГКСТ, тогда как для АсАТ уменьшается (18 % – 19 % – 15 % – 7 %) в эти же сезоны (таблица).

Один из возможных механизмов увеличения активности АлАТ и АсАТ вечером относительно утра – интенсификация апоптоза в вечернее время. Выше указывалась зависимость активности апоптоза от длительности фотопериода посредством активации светочувствительных часовых генов, которые, в свою очередь, контролируют активность генов, регулирующих деление клеток и апоптоз. Также согласно данным литературы увеличение эндогенного уровня ГКСТ является мощным проапоптическим фактором (активация апоптоза развивается по механизму активации каспаз) [11, 12]. Роль в ингибировании пролиферативной активности клеток и активации апоптоза характерна и для мелатонина [12].

Выводы

1. Активность ферментов цитолиза в сыворотке крови интактных крыс подвержена влиянию сезонных и циркадианных биоритмов.

2. Батифаза активности АлАТ в сыворотке крови интактных крыс в утренние и вечерние часы суток – весна; мезор – лето, осень, зима.

3. Батифаза активности АсАТ в утренние и вечерние часы – весна; акрофаза – осень и зима; мезор – лето.

4. Отличия активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови интактных крыс в зависимости от времени суток и сезона года следует учитывать для адекватной оценки результатов экспериментов при изучении традиционных и перспективных гепатопротекторов.

1. Хронофармакология наглядно (Хронофармакология в таблицах и рисунках): Справочник – учебное пособие / С. М. Дроговоз, С. И. Рапопорт, А. В. Кононенко [и др.]. – Х. : Титул, 2014. – 128 с.
2. *Мелешен М. И*. Роль биологических ритмов в реализации токсических эффектов химических веществ у млекопитающих в эксперименте: дис. кандидата биол. наук; *специальность 03.02.14* / Мелешен Марат Игоревич. – Владикавказ, 2010. – 127 с.
3. *Наймарк Е. П.* Наука во власти сна / Наймарк Е. П. // Что нового в науке и технике. – 2005. – № 7–8 [Электронный ресурс]. URL: http://elementy.ru/lib/164545/164546 (дата обращения: 11.09.2014).
4. Expression of circadian clock genes Per1 and Per2 in sporadic and familial breast tumors / L. Winter, L. Bosnoyan-Collins, D. Pinnaduwage, I. Andrulis // Neoplasia. – 2007– V. 9, № 10. – P. 797–800.
5. *Dallmann R.* Chronopharmacology: new insights and therapeutic implications / R. Dallman, S. A. Brown, F. Gachon // Pharmacology and toxicology. – 2014 – V. 54. – P. 339–361.
6. *Джандарова Т. И.* Роль околощитовидных желез в организации циркадианных ритмов физиологических функций и поведенческих реакций: дис. доктора биол. наук; *специальность 03.00.13* / Джандарова Тамара Исмаиловна. – Ставрополь, 2003. – 440 с.
7. *Протасова Т. Н.* Гормональная регуляция активности ферментов / Т. Н. Протасова. – М. : Медицина, 1975. – 125 с.
8. *Арушанян Э. Б.* Суточные колебания концентрации кортикостерона в плазме и локомоции у крыс при локальном разрушении гиппокампа / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер, Е. В Белик // Российский физиологичный журнал. – 1999. – № 5. – С. 616 –620.
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под. ред. док. мед. наук. А. Н. Миронова. – М. : Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с.
10. *Камышников В. С*. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – Мн. : Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
11. *Реброва О. Ю*. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – [3-е изд.]. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с. –
12. Мелатонин – теория и практика / С. И. Рапопорт, В. А. Голиченкова [и др.]. – М. : Медпрактика-М, 2009. – 51 с.

Е.А. Калько, С. М. Дроговоз, Л. Б. Иванцик

Влияние циркадианных и сезонных биоритмов на активность ферментов цитолиза у интактных крыс

Цель исследования – изучение влияния циркадианных и сезонных биоритмов на активность ферментов цитолиза в сыворотке крови интактных крыс. Крыс-самцов подвергали эвтаназии с дальнейшим получением сыворотки крови в четыре сезона года. В каждом сезоне была утренняя (10 ч) и вечерняя группы (22 ч) по 6–8 животных в каждой. Забор крови повторяли трижды в каждом сезоне с целью исключения погрешности исследования. Влияние циркадианных ритмов определяли, сравнивая экспериментальные данные утренних и вечерних групп, а сезонных ритмов – на основание анализа показателей четырех сезонов (зима, весна, лето, осень).

Согласно результатам исследования активность ферментов цитолиза АлАТ и АсАТ в сыворотке крови интактнных животных статистически достоверно выше вечером по сравнению с утром во все четыре сезона года. Разница вечерних показателей относительно утренних для АлАТ колеблется в диапазоне от 16 % (осень) до 55 % (лето). Данная динамика также характерна для АсАТ, но с меньшей разницей (от 7 % до 18 % в зависимости от сезона года).

Анализ полученных данных свидетельствует о влиянии сезонных и циркадианных биоритмов на активность ферментов цитолиза у интактных крыс.

Отличия показателей активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови интактных крыс в зависимости от времени суток и сезона года следует учитывать для адекватной оценки результатов экспериментов при изучении традиционных и перспективных гепатопротекторов.

Ключевые слова: печень, циркадианный ритм, сезонный ритм, ферменты цитолиза

К. О. Калько, С. М. Дроговоз, Л. Б. Іванцик

Вплив циркадіанних і сезонних біоритмів на активність ферментів цитолізу в інтактних щурів

Мета дослідження – вивчення впливу циркадіанних та сезонних біоритмів на активність ферментів цитолізу в сироватці крові інтактних щурів. Щурів-самців декапітували з подальшим отриманням сироватки крові у чотири сезони. В кожному сезоні була ранкова (10 год) та вечірня групи (22 год) по 6–8 тварин у кожній. Забір крові повторювали тричі в кожному сезоні з метою уникнення похибки дослідження. Вплив циркадіанних ритмів оцінювали, порівнюючи експериментальні дані ранкових та вечірних груп, а сезонних ритмів – на основі аналізу даних чотирьох сезонів (зима, весна, літо, осінь).

Згідно із результатами дослідження, в сироватці крові інтактних тварин статистично підвищена активність ферментів цитолізу АлАТ та АсАТ ввечері відносно ранку в усі чотири сезони року. Різниця

вечірніх показників відносно ранкових для АлАТ коливається в діапазоні від 16 % (осінь) до 55 % (літо). Така динаміка також характерна для АсАТ, проте з меншою різницею (від 7 % до 18 %) залежно від сезону року. Аналіз отриманих даних свідчить про вплив циркадіанних і сезонних біоритмів на активність ферментів цитолізу інтактних щурів.

Відмінності показників активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові інтактних щурів залежно від часу доби та сезону року слід враховувати для адекватної оцінки результатів експериментів при вивченні традиційних і перспективних гепатопротекторів.

Ключові слова: печінка, циркадіанний ритм, сезонний ритм, ферменти цитолізу

E. A. Kalco, S. M. Drogovoz, L. B. Ivantsik

Influence of circadian and seasonal biorhythms on the cytolytic enzymes activity in intact rats

The aim of this paper was to study the influence of circadian and seasonal biorhythms on the cytolytic enzymes activity in intact rats. Rats (males) were decapitated and blood serum samples for four seasons were obtained. Each season consisted the morning (10 a.m.) and evening group (10 p.m.) with 6–8 animals in each. Blood sampling was repeated three times in each season, in order to avoid the error of the study. Circadian rhythms influence was determined by comparing the experimental results of the morning and evening groups, and seasonal rhythms based on an analysis of the four seasons (winter, spring, summer, autumn).

The data obtained indicate thaf in intact animals the cytolytic activity of the enzymes AlAT and AsAT were significantly increased in the evening as compaed to the morning in all four seasons of the year. The difference in percentage between evening and morning markers for AlAT was in the range from 16 % (autumn) to 55 % (summer). These dynamics is also a characteristic of the AsAT, but with little difference (from 7 % to 18 % depending on the season). Analysis of the data indicates the influence of seasonal and circadian biorhythms on cytolytic enzymes activity in intact rats.

Differences of AlAT and AsAT activity in intact rats, depending on the time of a day and a season of the year, should be considered for an adequate assessment of the results of experimental study of traditional and advanced hepatoprotectors.

Key words: a liver, a circadian rhythm, a seasonal rhythm, cytolytic enzymes

Надійшла: 19.12.2014 р.

Контактна особа: Дроговоз С. М., Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61140. Тел.: + 38 0 57 706 35 81.

УДК 615.322:582.711.71:616.379-008.64-085

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський, Г. О. Жернова

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba L.*) за умов дексаметазонового діабету в щурів

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: інсулінорезистентність, чорноголовник родовиковий, дексаметазоновий діабет

Цукровий діабет (ЦД) є найпоширенішим хронічним ендокринним захворюванням. За даними експертів Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, до 2030 року кількість хворих на ЦД на земній кулі буде близько 438 млн чоловік і 90 % з ЦД 2 типу [1].

Головну роль у патогенезі цукрового діабету 2 типу відіграє поєднання дисфункції β-клітин підшлункової залози та резистентності до інсуліну, тобто зниження чутливості тканин до інсуліну. На момент виникнення цукрового діабету 2 типу в більшості пацієнтів присутні обидва фактори [3].

Ураховуючи темпи поширення цього неінфекційного захворювання, актуальним і пріоритетним є пошук ефективних і безпечних лікарських засобів для його лікування.

Сьогодні як гіпоглікемічні агенти все частіше застосовують засоби рослинного походження завдяки прогнозованій ефективності, меншій кількості побічних ефектів у клінічній практиці та відносно низькій вартості [4]. Більше ніж 1000 видів рослин використовують у народній медицині для лікування діабету, що напряму пов'язано з їхнім хімічним складом. Рослини, багаті фенольними сполуками, флавоноїдами, терпеноїдами, кумаринами, мають здатність знижувати рівень глюкози крові.

Серед представників родини *Rosaceae* привертає увагу рід *Poterium*, чимало видів якого в багатьох країнах світу традиційно використовуються для лікування діабету. Так наприклад, *Sanguisorba minor Scop.* (*Poterium sanguisorba L.*) містить тритерпенові сполуки, які виявляють гіпоглікемічну дію, водний екстракт *Poterium spinosum L.* знижує рівень глюкози крові в кролів, *Poterium ancistroides Guir. ex. Nym.* у наземній частині містить торментилову кислоту, яка впливає на секрецію інсуліну [5].

Серед перерахованих представників в Україні широко розповсюджений вид *P. Sanguisorba L.* (*Sanguisorba minor Scop.*) – чорноголовник родовиковий [6].

Мета дослідження – експериментально дослідити антидіабетичні властивості відвару підземних органів чорноголовника родовикового за умов дексаметазонового діабету.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію з доступом до води adlibitum.

Дослідження проводили згідно з морально-етичними нормами відповідно до правил ICH/GCP, Хельсинкської декларації (1964 р.), і законодавства України.

Моделювання інсулінорезистентності проводили за допомогою надмірних доз глюкокортикоїдів [7].

Відомо, що надмірні дози глюкокортикоїдів можуть призводити до порушень секреторної функції панкреатичних бета-клітин та розвитку інсулінорезистентності. В експериментальних тварин відмічається погіршення толерантності до вуглеводів та зниження чутливості периферичних тканин до дії інсуліну. Дексаметазоновий діабет дозволяє відтворити головні патогенетичні механізми (порушення секреції та дії інсуліну), що спостерігаються у хворих на цукровий діабет 2 типу [8].

© Колектив авторів, 2015

Протягом 15 діб в один і той самий час тваринам щодня внутрішньом'язово вводили розчин дексаметазону (KRKA, Словенія) у дозі 0,1 мг/кг для індукції інсулінезалежного діабету.

Окрім групи тварин, що отримувала відвар підземних органів чорноголовника родовикового, була сформована група діабетичних тварин, яким вводили за аналогічною схемою плацебо (діабетичний контроль), група інтактних тварин (інтактний контроль) та референс-група.

Відвар чорноголовника родовикового (ВЧР) готували відповідно до стандартної фармакопейної методики та вводили тваринам перорально в дозі 10 мл/кг. Група діабетичного контролю отримувала еквівалентну кількість води дистильованої як плацебо.

Як референс-препарат був використаний гліклазид (Servier, Франція), свіжоприготовлену суспензію якого вводили перорально в дозі 50 мг/кг. Оскільки в гризунів на відміну від людини та м'ясоїдних тварин (собаки, кішки) всмоктування препаратів сульфонілсечовини гальмується через незначну кількість лугів у кишечнику, гліклазид, як похідне сульфонілсечовини, вводили з додаванням лугу, який утворює з вищезазначеними похідними добре розчинні солі, що сприяє їхньому швидкому всмоктуванню [7].

Пероральне введення тваринам ВЧР, суспензії гліклазиду та води дистильованої проводили одночасно з ін'єкціями дексаметазону протягом 15 діб.

Характеристику глюкозного гомеостазу проводили за допомогою короткого інсулінового тесту, орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ) [7]. Також оцінювали вплив відвару підземних органів чорноголовника родовикового та референс-препарату на розвиток адреналінової гіперглікемії [9].

Короткий інсуліновий тест дозволяє оцінити чутливість як печінки, так і периферичних тканин до дії інсуліну, враховуючи гальмування продукції глюкози в печінці та підвищення утилізації глюкози м'язами внаслідок ефекту гормона. Чутливість до інсуліну (Ново Нордіск, Данія) визначають, розраховуючи відсоток зниження базальної глікемії через 30 хв після внутрішньочеревинного введення гормона тваринам натщесерце (1 Од/кг маси тіла).

Оральний тест толерантності до глюкози – глюкозу (3 г/кг маси тіла) вводять за допомогою зонду перорально. Проби крові для аналізу глюкози відбирають до та через 15, 30, 60 та 120 хв після навантаження.

Глікемічну реакцію при проведенні тесту толерантності до вуглеводів оцінювали за площею під глікемічними кривими (ммоль/л·хв), яку обчислювали за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab».

Вплив досліджуваних об'єктів на адреналінову гіперглікемію проводили за допомогою 0,18 % розчину адреналіну гідрохлориду, який вводили тваринам внутрішньом'язово в дозі 0,5 мг/кг. Рівень глюкози крові реєстрували до та через 30 і 90 хв після введення адреналіну [9].

Уміст глюкози в крові визначали за допомогою глюкометра One Touch Select (Johnson and Johnson, США).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням пакета програми «Statistica® for Windows 7,0». Статистичну значимість відмінностей вибірок встановлювали шляхом перевірки «нульової гіпотези» з використанням критерію Стьюдента. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез вважали рівним 0,05 та 0,01.

Результати та їх обговорення. У результаті дослідження виявлено, що в тварин інтактного контролю рівень глюкози через 30 хв після введення інсуліну знижувався в середньому на 60,2 %, у той час, як у тварин діабетичного контролю цей показник склав 37,5 %, що підтверджує розвиток інсулінорезистентності. У тварин, що отримували ВЧР та референс-препарат, процентний показник зниження глюкози при проведенні інсулінової проби вірогідно не відрізнявся від інтактної групи (рис. 1). Це може свідчити про гальмування розвитку інсулінорезистентності в вищеозначених групах тварин.

При проведенні ОТТГ встановлено, що площа під глікемічною кривою в тварин діабетичного контролю майже

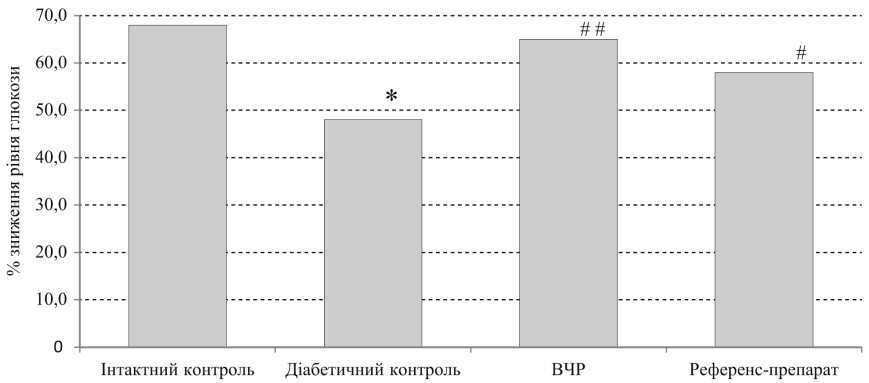


Рис. 1. Чутливість до дії інсуліну за умов дексаметазонового діабету та впливу відвару чорноголовника родовикового, n = 7

*Примітка. Тут і на рис. 2–3: *p < 0,05, **p < 0,01 – вірогідність відмінності порівняно з показниками інтактного контролю; #p < 0,05, ##p < 0,01 – вірогідність відмінності порівняно з показниками діабетичного контролю.*

в 2 рази перевищувала відповідну площу в групі щурів інтактного контролю (рис. 2). У свою чергу, площа під глікемічною кривою в групах тварин, які отримували ВЧР та референс-препарат, достовірно не відрізнялася від показника в групі щурів інтактного контролю, що свідчить про нормалізацію толерантності до глюкози в цих групах експериментальних тварин.

У групі інтактного контролю через 90 хв після введення розчину адреналіну гідрохлориду рівень глюкози підвищився на 143,8 % (рис. 3). Після введення розчину адреналіну гідрохлориду групі діабетичного контролю було зареєстровано різке підвищення рівня глюкози в крові на 278,7 %, що свідчить про значне збільшення чутливості до стимулюючої дії адреналіну на процеси глюконеогенезу за умов індукованої інсулінорезистентності. У групі, що одержувала ВЧР, відбулося підвищення рівня глюкози на 142,6 %, що на 136,1 % менше показника в контрольній групі та достеменно відрізняється від останнього. У групі, що отримувала референс-препарат, реакція на адреналін була найменшою: рівень глюкози через 90 хв зріс тільки на 97,6 %, що свідчить про гальмування чутливості до дії адреналіну під впливом препарату (рис. 3).

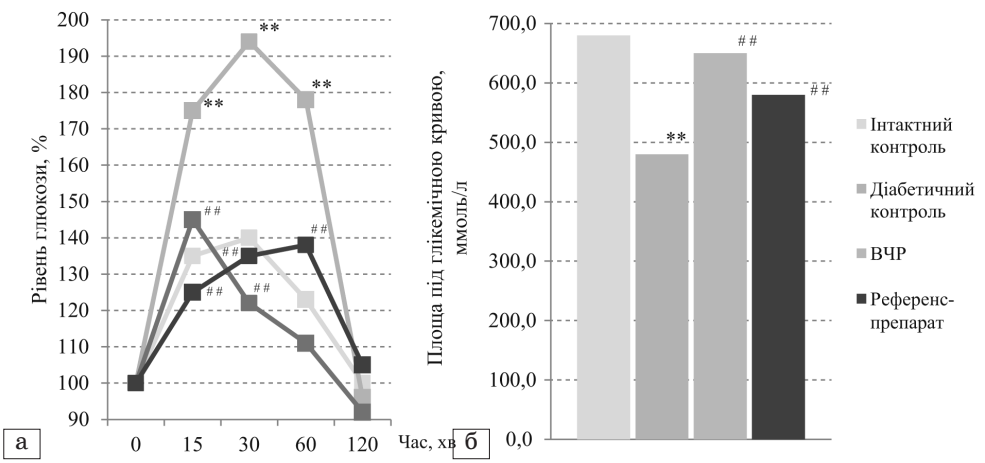


Рис. 2. Динаміка глікемії (а) та площа під глікемічною кривою (б) під час орального тесту толерантності до глюкози у щурів за умов дексаметазонового діабету та впливу відвару чорноголовника родовикового, n = 7

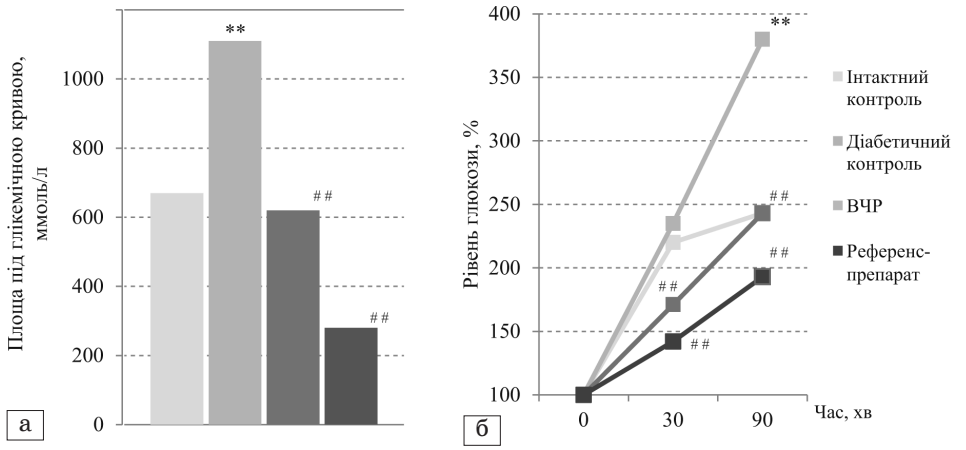


Рис. 3. Площа під глікемічною кривою (а) та динаміка глікемії (б) під час адреналінового тесту у щурів за умов дексаметазонового діабету та впливу відвару чорноголовника родовикового, n = 7

Висновки

1. Проведено експериментальне дослідження антидіабетичних властивостей відвару підземних органів чорноголовника родовикового за умов дексаметазонового діабету у щурів.

2. Показано, що відвар підземних органів чорноголовника родовикового за умов курсового введення має здатність зменшувати рівень глюкози в крові щурів, знижувати формування інсулінорезистентності та глюкозотолерантності на тлі стероїдного діабету. За антидіабетичною активністю відвар підземних органів чорноголовника родовикового не поступається рефренс-препарату – гліклазиду.

3. Підземні органи чорноголовника родовикового є перспективними для подальшого вивчення щодо можливості створення лікарського засобу з антидіабетичними властивостями.

1. *Полозова Л. Г.* Терапия сахарного диабета 2-го типа: эффективность, доказанная временем / Л. Г. Полозова // Международный эндокринологический журнал. – 2013. – № 4 (52). – С. 57–62.
2. *Кочергина И. И.* Пути коррекции инсулинорезистентности и метаболического синдрома при СД 2 типа. Роль Сиофора / И. И. Кочергина, К. А. Уланова // Русский медицинский журнал. – 2007. – Т.15, № 28. – С. 160–171.
3. *Демидова Т. Ю.* Коррекция инсулинорезистентности обеспечивает многофакторную стратегию управления сахарного диабета 2 типа / Т. Ю. Демидова, Е. Н. Ерохина // Русский медицинский журнал. – 2007. – № 11. – С. 897–907.
4. Herbal Medicines for Diabetes Mellitus: A Review / M. Upendra Rao [et al.] // International Journal of ChemTech Research. – 2010. – № 2 (3). – P. 1883–1892.
5. *Clifford Bailey*. Traditional medicines for modern times: antidiabetic plants / Clifford Bailey, Caroline Day // Diabetescare. – 1989. – V. 12, № 3. – P. 553–564.
6. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин [и др.]. – К. : Наук. думка, 1987. – 548 с.
7. *Стефанов А. В.* Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.
8. *Селятицкая В. Г.* Динамика формирования инсулинорезистентности у экспериментальных животных при длительном введении глюкокортикоидных гормонов / В. Г. Селятицкая, О. И. Кузьминова, С. В. Одинцов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 4. – С. 394–396.
9. Экспериментальное изучение противодиабетической активности 4-аминобензоилгидразида янтарной кислоты / В. П. Когетов, Н. В. Колотова, И. П. Булатов [et al.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 5. – С. 66–69.

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський, Г. О. Жернова

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba L.*) за умов дексаметазонового діабету в щурів

Мета дослідження – вивчити антидіабетичні властивості відвару підземних органів чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba L.*) за умов дексаметазонового діабету.

Моделювання інсулінорезистентності проводили за допомогою надмірних доз глюкокортикоїдів (дексаметазон, 0,1 мг/кг). Відвар чорноголовника родовикового (ВЧР) готували відповідно до

стандартної фармакопейної методики та вводили перорально в дозі 10 мл/кг. Як референс-препарат був використаний гліклазид, свіжоприготовлену суспензію якого вводили перорально в дозі 50 мг/кг. Характеристику глюкозного гомеостазу проводили за допомогою короткого інсулінового тесту, орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ). Також оцінювали вплив відвару підземних органів чорноголовника родовикового та референс-препарату на розвиток адреналінової гіперглікемії.

Зниження рівня глюкози, через 30 хв після введення інсуліну, у групі, що отримувала ВЧР, відбулося на 54,2 %, у той час як у групі діабетичного контролю зниження склало 37,5 %. У результаті проведення ОТТГ було виявлено, що площа під глікемічною кривою групи ВЧР достовірно не відрізнялася від показника інтактної групи. Введення розчину адреналіну гідрохлориду не викликало такого різкого та значного підняття рівня глюкози в групі, що одержувала ВЧР (на 142,6 %), на відміну від групи діабетичного контролю (на 278,7 %).

Отримані результати свідчать про те, що відвар підземних органів чорноголовника родовикового має здатність знижувати формування інсулінорезистентності та глюкозотолерантності на тлі стероїдного діабету.

Ключові слова: інсулінорезистентність, чорноголовник родовиковий, дексаметазоновий діабет

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський, Г. А. Жернова

Противодиабетические свойства черноголовника кровохлебкового (*Poterium sanguisorba L.*) в условиях дексаметазонового диабета у крыс

Цель исследования – изучение противодиабетических свойств отвара подземных органов черноголовника кровохлебкового (Poterium sanguisorba L.) в условиях дексаметазонового диабета.

Моделирование инсулинорезистентности проводили с помощью чрезмерных доз глюкокортикоидов (дексаметазон, 0,1 мг/кг). Отвар черноголовника кровохлебкового (ОЧК) готовили согласно стандартной фармакопейной методики и вводили перорально в дозе 10 мл/кг. Как референс-препарат был использован гликлазид, свежеприготовленную суспензию которого вводили перорально в дозе 50 мг/кг. Характеристику глюкозного гомеостаза проводили с помощью короткого инсулинового теста, орального теста толерантности к глюкозе (ОТТГ). Также оценивали влияние отвара подземных органов черноголовника кровохлебкового и референс-препарата на развитие адреналиновой гипергликемии.

Снижение уровня глюкозы через 30 мин после введения инсулина в группе, получавшей ОЧК, произошло на 54,2 %, в то время как в группе диабетического контроля снижение составило 37,5 %. В результате проведения ОТТГ было обнаружено, что площадь под гликемический кривой группы ОЧК достоверно не отличалась от таковой площади интактной группы. Введение раствора адреналина гидрохлорида не вызывало такого резкого и значительного повышения уровня глюкозы в группе, получавшей ОЧК (на 142,6 %), в отличие от группы диабетического контроля (на 278,7 %).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что отвар подземных органов черноголовника кровохлебкового обладает способностью снижать формирования инсулинорезистентности и глюкозотолерантности на фоне стероидного диабета.

Ключевые слова: инсулинорезистентность, черноголовник кровохлебковый, дексаметазоновый диабет

V. S. Klevanova, S. D. Trzhetsynskyy, G. O. Gernova

Antidiabetic properties of blood burnet (*Poterium sanguisorba L.*) under dexamethasone diabetes

The aim of the research was to investigate experimentally antidiabetic properties of Blood burnet's underground organs decoction in rats with dexamethasone diabetes.

Simulation of diabetes was performed using excessive doses of glucocorticoids (dexamethasone, 0,1 mg/kg). Blood burnet's decoction (BBD) was prepared in accordance with a standard pharmacopeia method and administered orally at the dose of 10 ml/kg. Gliclazide freshly suspension was used as a reference drug and it was administered orally by 50 mg/kg. Characteristic of glucose homeostasis was carried out using a short insulin test, oral glucose tolerance test (OGTT). The effect BBD and reference drug on adrenaline hyperglycemia was investigated also.

BBD administration led to decrease in glucose level in response to insulin by 54,2 % against only 37,5 % in the group of diabetic control. OGTT demonstrated that the area under the glycemic curve of BBD didn't significantly differ from that area of the intact group.

Introduction of epinephrine hydrochloride solution did not cause such a sharp and significant elevation of glucose in the group receiving BBD (to 142,6 %) in contrast to the diabetic control group (to 278,7 %).

The results suggest that the Blood burnet's decoction has the ability to reduce the formation of insulin resistance and glucose tolerance against the backdrop of steroid diabetes.

Key words: insulin resistance, Blood burnet, dexamethasone diabetes

Надійшла: 16.12.2014 р.

Контактна особа: Клеванова В. С., старший лаборант, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 95 830 95 67. Електронна пошта: kushugum@mail.ru

УДК 615.017:661.718.6:57.043

В. Д. Лук'янчук[1], І. Й. Сейфулліна[2], К. О. Шебалдова[3], О. Е. Марцинко[2]

Дослідження актопротекторної активності нового антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3 після перенесеної гіпоксії замкнутого простору

[1]ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ
[2]Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
[3]Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

Ключові слова: ВІТАГЕРМ-3, актопротекторна активність, антигіпоксант, гіпоксія замкнутого простору

Однією з небезпечних форм екзогенної гіпоксії є така її гостра форма, яка виникає за умов низького парціального тиску кисню та високої концентрації діоксиду вуглецю в повітрі, яке вдихають, тобто формується гостра гіпоксична гіпоксія в поєднанні з прогресуючою гіперкапнією. Така форма гіпоксичного синдрому розвивається в замкнутому невентильованому просторі й отримала назву гіпоксія замкнутого простору (ГЗП), яка, на жаль, нерідко зустрічається за аварійних ситуацій у глибоких вугільних шахтах, на підводних човнах тощо.

Враховуючи екстремальні обставини, що складаються у кисненедоступному просторі, є необхідність не тільки збільшити тривалість перебування в невентильованому замкнутому просторі, але й зробити все можливе для вивільнення постраждалих із гермооб'єму, що утворився. Ясна річ, що в обох випадках люди мають мати високу працездатність і фізичну витривалість за умов дефіциту кисню в навколишньому середовищі.

Теоретичним підґрунтям для пошуку та розробки такого антигіпоксанта, який поєднував би в собі актопротекторні властивості, є класичні уявлення щодо фармакодинаміки актопротекторів, які, згідно із даними [1–3], здатні попереджати виникнення наслідків гіпоксичного синдрому, що прогресує, при інтенсивних фізичних навантаженнях на тлі дефіциту кисню в повітрі, яке вдихають.

Мета дослідження – вивчення впливу ВІТАГЕРМ-3 на витривалість і працездатність тварин у ранній постгіпоксичний період після перенесеної ГЗП.

Матеріали та методи. Досліди виконані на 90 мишах масою 15–20 г після проходження карантину впродовж 14 днів. Експериментальна модель ГЗП – патологічний процес, що розвивається в тварин у замкнутому просторі. Моделювання гіпоксичної гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією проводили шляхом поміщення тварин у скляні гермооб'єми (1 дм^3), які перевертали догори дном та опускали в піднос з водою, щоб попередити потрапляння повітря. При цьому експозиція складала 30 хв. Усіх тварин було розподілено на 4 групи по 8–10 мишей у кожній: інтактну, контрольну, дослідну та референтну. Контрольній серії мишей після моделювання ГЗП внутрішньоочеревинно вводили еквіоб'ємну кількість (відносно ВІТАГЕРМ-3) ізотонічного розчину натрію хлориду. Мишам дослідної групи внутрішньоочеревинно вводили ВІТАГЕРМ-3 (комплекс германію (IV) та калію з діетилентриамінпентаоцтовою кислотою) у раніше [4] експериментально обґрунтованому дозовому режимі: 48,7 мг/кг у вигляді 1 % водного розчину за 36 хв до початку моделювання ГЗП. Як препарат порівняння було обрано відомий фармакотерапевтичний засіб протигіпоксичної дії, що широко застосовується в клінічній практиці та експериментальній фармакології – мексидол (виробництво «Фармасофт», РФ), який застосовували для мишей у дозі

© Колектив авторів, 2015

100 мг/кг за 36 хв до поміщення тварин у гермообʼєми.

Актопротекторну активність у мишей за умов профілактичного застосування ВІТАГЕРМ-3 при ГЗП оцінювали за плавальним тестом у воді (27–28 °С) із навантаженням 10 % від маси тіла миші. З метою максимально всебічної оцінки актопротекторної активності ВІТАГЕРМ-3 у ранньому постгіпоксичному періоді визначали наступні показники: $T_{пнв}$ – тривалість стабільного плавання мишей при диханні над поверхнею води; $T_{пзв}$ – тривалість здійснення плавальних рухів при повному зануренні під воду; $T_{п}$ – загальна тривалість плавання мишей від моменту потрапляння у воду до повної втоми, а саме до зупинки плавання та занурення під воду. Усі три показники вимірювали в секундах [5]. Отримані в експерименті дані обробляли на персональному комп'ютері з використанням стандартного пакета програм Mathematica V.5.0 та Statistica V.10.0 за допомогою теста t-Стьюдента (нормальність розподілу перевіряли тестом Левена) [6].

Результати та їх обговорення. Отримані в експерименті результати надано в таблиці.

Показано, що в тварин після перенесеної гострої гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (контроль) через 6 год від моменту реоксигенації тривалість плавання навіть дещо більша, ніж у інтактних мишей, не дивлячись, що ця різниця не є вірогідною ($P > 0,05$). На перший погляд ці дані є артефактом, однак, згідно із даними літератури [7], гіпоксія виступає чинником, який здатен у короткі терміни підвищувати працездатність організму, що є актуальним для спортивної медицини. За даними [8–10], підвищення резистентності в процесі адаптації до гіпоксії й зміни гемостазу під впливом цього чинника є одним із шляхів розширення функціональних можливостей організму. Не виключено також, що цей феномен є наслідком «гіпоксичного» збільшення кількості мітохондрій як адаптаційно-компенсаторної реакції на дефіцит кисню.

Наведене пояснення є слушним, якщо проаналізувати результати тривалості плавання контрольних мишей над водою в більш пізні терміни (24 год). Як видно з таблиці, дійсно, з плином часу фізична витривалість навпаки дещо зменшилася відносно інтактних мишей.

Поряд з цим, встановлено, що в дослідній групі тварин у ранньому постгіпоксичному періоді толерантність до фізичного навантаження, яка встановлена шляхом визначення тривалості стабільного плавання мишей при диханні над поверхнею води, у середньому на 15 % вище ($P < 0,001$) порівняно з інтактними тваринами. На особливу увагу заслуговує той факт, що ці показники в тварин дослідної та референтної груп не мають вірогідної різниці ($P > 0,05$), проте відновлення даного параметра після ГЗП на фоні застосування ВІТАГЕРМ-3 відбувається більш інтенсивно (таблиця).

Порівняно високу актопротекторну активність ВІТАГЕРМ-3 відносно референтного препарату варто оцінювати оптимістично, оскільки є загальновідомим той факт, що мексидол як похідне янтарної кислоти підвищує резистентність організму до фізичних навантажень та різних екстремальних чинників. При цьому реалізується не тільки антигіпоксантна дія, але й антиоксидантна та мембранопротекторна активність.

Встановлене в експерименті підвищення працездатності в групі тварин, які отримували з профілактичною метою координаційну сполуку германію, що вивчається, вірогідно, є свідченням більш швидкого включення компенсаторно-адаптаційних механізмів, в основі яких лежить аеробний шлях утворення енергії. Це, на нашу думку, відбувається за рахунок того, що ВІТАГЕРМ-3 попереджає роз'єднання окисного фосфорилювання в мітохондріях завдяки наявності мембранопротекторних властивостей, що забезпечує збереження резервів АТФ. Крім того, не слід забувати про внесок калію, який входить до складу ВІТАГЕРМ-3, у синтез глікогену [11], що також, як відомо, реалізується підвищенням толерантності до фізичного навантаження.

Таблиця

Вплив ВІТАГЕРМ-3 на показники фізичної витривалості за умов примусового плавання мишей після перенесеної гіпоксії замкнутого простору, n = 8–10

Група тварин	Статистичний показник	Термін дослідження (після початку реоксигенації)	
		6 год	24 год
Тривалість стабільного плавання мишей при диханні над поверхнею води ($T_{пнв}$), с			
Інтактна	M ± m	50,00 ± 0,78	
Контрольна	M ± m P_1	53,00 ± 1,26 > 0,05	47,70 ± 1,51 > 0,05
Дослідна	M ± m P_1 P_2 P_3	58,60 ± 1,60 < 0,001 < 0,05 > 0,05	58,20 ± 1,29 < 0,001 < 0,001 > 0,05
Референтна	M ± m P_1 P_2	53,60 ± 1,55 > 0,05 > 0,05	53,37 ± 1,81 > 0,05 < 0,05
Тривалість здійснення плавальних рухів при повному занурюванні під воду ($T_{пзв}$), с			
Інтактна	M ± m	43,00 ± 1,49	
Контрольна	M ± m P_1	37,90 ± 0,94 < 0,05	40,30 ± 1,50 > 0,05
Дослідна	M ± m P_1 P_2 P_3	37,30 ± 1,47 < 0,05 > 0,05 > 0,05	42,60 ± 1,97 > 0,05 > 0,05 > 0,05
Референтна	M ± m P_1 P_2	37,60 ± 1,60 < 0,05 > 0,05	43,87 ± 1,06 > 0,05 > 0,05
Загальна тривалість плавання тварин від моменту потрапляння у воду до повної втоми ($T_п$), с			
Інтактна	M ± m	94,00 ± 1,44	
Контрольна	M ± m P_1	90,90 ± 1,69 > 0,05	88,00 ± 1,86 < 0,05
Дослідна	M ± m P_1 P_2 P_3	95,90 ± 1,99 > 0,05 > 0,05 > 0,05	100,80 ± 1,6 < 0,05 < 0,001 > 0,05
Референтна	M ± m P_1 P_2	91,20 ± 1,58 > 0,05 > 0,05	97,25 ± 1,51 > 0,05 < 0,01

Примітка. P_1 – вірогідно порівняно з інтактною групою, P_2 – вірогідно порівняно з контрольною групою, P_3 – вірогідно порівняно з референтною групою.

Отже, експериментально доведено, що ВІТАГЕРМ-3 за умов його застосування із захисною метою за показником тривалості стабільного плавання мишей при диханні над поверхнею води чинить виразну активуючу дію на фізичну працездатність та не поступається ефекту референтного препарату мексидолу.

З метою експериментального підтвердження, що ВІТАГЕРМ-3 у ранньому постгіпоксичному періоді дійсно чинить актопротекторну активність, нами було виконано окрему серію дослідів з визначення в динаміці тривалості здійснення плавальних рухів при повному занурюванні тварин під воду. Встановлено, що в тварин, які перенесли ГЗП та не отримали лікування (контроль), через 6 год після початку реоксигенації тривалість спроби «виплисти» була на 12 % меншою ніж у мишей інтактної серії ($P < 0,05$), а вже через 24 год – ця різниця була невірогідною.

У протилежність цьому, застосування координаційної сполуки германію, що вивчається, після перенесеної ГЗП підвищує здатність тварин протистояти фізичному виснаженню на рівні з мишами інтактної групи і, що вельми важливо, при цьому зафіксовані дані не мають вірогідних відмінностей ($P > 0,05$). Крім того, необхідно підкреслити, що результати, які отримані при вивченні впливу ВІТАГЕРМ-3 на динаміку значень показника $T_{пзв}$, практично відповідають таким величинам, котрі зареєстровані в групі порівняння, тобто на фоні введення мексидолу (таблиця).

Аналіз та узагальнення отриманих даних щодо визначення наявності та виразності актопротекторного ефекту у ВІТАГЕРМ-3 за показником тривалості плавання мишей під водою дозволяють заключити, що, по-перше, досліджуваний антигіпоксант дійсно має здатність попереджати розвиток втоми та підвищувати працездатність. Важливим, на нашу думку, є те, що ВІТАГЕРМ-3 здійснює енергозабезпечення організму саме за анаеробних умов. З огляду на це, ВІТАГЕРМ-3 заслуговує на увагу ще й тому, що він сприяє покращанню утилізації кисню в організмі та зменшенню потреби в кисні органів і тканин, підвищуючи таким чином стійкість організму до фізичних навантажень у безкисневому середовищі.

На завершення вважаємо за потрібне надати експериментальну оцінку загальної тривалості плавання тварин від моменту потрапляння у воду до повної втоми. Встановлено, що в контрольній групі тварин (ГЗП без лікування) толерантність до фізичного навантаження на 24 год дослідження на 6 % нижче ($P < 0,05$) порівняно з інтактною серією. Вірогідно, що зниження працездатності щурів контрольної групи відбувається внаслідок постгіпоксичного енергодефіциту, який знаходиться в тісному взаємозв'язку з активацією ПОЛ та пригніченням функціонування антиоксидантної системи, що виникає в нейроцитах головного мозку за умов його гіпоксичного пошкодження.

У той самий час, на фоні застосування ВІТАГЕРМ-3 у всі терміни дослідження реєструється інша порівняно з контролем динаміка загальної тривалості плавання тварин, що перенесли ГЗП. Так, профілактичне введення ВІТАГЕРМ-3 сприяє вірогідному ($P < 0,01$) збільшенню часу до повної зупинки плавання та занурювання тварин під воду в середньому на 15 % порівняно з контролем ($P < 0,001$) та на 7 % порівняно з інтактними тваринами ($P < 0,05$). При цьому зареєстровані дані не мають вірогідних відмінностей ($P > 0,05$) з групою тварин, які в аналогічному режимі отримували еталонний препарат – мексидол, що є дуже важливим для оцінки актопротекторної ефективності ВІТАГЕРМ-3 у ранньому періоді реоксигенації.

Виявлена в експерименті актопротекторна активність координаційної сполуки, що досліджується, найвірогідніше реалізується за рахунок низки фармакодинамічних ефектів, що спрямовані на підвищення інтегральної стійкості організму до оксидативного стресу, який формується в період реоксигенації після ГЗП, і, відповідно, підвищення здатності організму тварин до фізичних навантажень.

Висновки

1. Гіпоксична гіпоксія в поєднанні з гіперкапнією призводить до зниження фізичної активності тварин після їхнього вилучення з замкнутого простору, що проявляється збільшенням рівня втомлюваності, який є наслідком порушення енергетичного гомеостазу на тлі кисневого дефіциту.

2. На фоні застосування ВІТАГЕРМ-3 відбувається суттєве підвищення працездатності та динамічної витривалості організму в періоді реоксигенації в мишей, що перенесли ГЗП. При цьому за впливом на показники актопротекторної активності ВІТАГЕРМ-3 не поступається референтному препарату – мексидолу.

1. Фармакологія / Під ред. І. С. Чекмана. – Вінниця, Нова Книга, 2011. – 219 с.
2. Фармакология спорта / Горчакова Н. А., Гудивок Я. С., Гунина Л. М. [и др.]; под. общ. ред. С. А. Олейника, Л. М. Гуниной, Р. Д. Сейфуллы. – К. : Олимп. л-ра, 2010. – 640 с. : ил., табл. – Библиогр.: С. 631–639.
3. *Оковитый С. В*. Клиническая фармакология антигипоксантов / Оковитый С. В. // Клиническая фармакология. Избранные лекции. – М. : ГЭОТАР-Медиа. – 2009. – С. 602.
4. Дослідження фармакометричних показників режиму дозування антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3 / В. Д. Лук'якчук, К. О. Шебалдова, Д. С. Кравець, Л. С. Бобкова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 4-5 (35). – С. 66–69.
5. *Левина М. Н.* Сравнительное изучение влияния ладастена, сиднокарба и их комбинации на физическую работоспособность / М. Н. Левина, Б. А. Бадыштин, М. А. Яркова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69, № 3. – С. 68–70.
6. *Гланц С*. Медико-биологическая статистика: пер с англ. / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 459 с.
7. Физическая работоспособность после курса интервальных гипоксических тренировок / В. Г. Давыдов, А. В. Дергунов, В. Н. Цыган [и др.] // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2013. – № 3 (43). – С. 99–101.
8. *Исаев Г. Г.* Взаемодействие гиперкапнического и гипоксического стимулов дыхания при мышечной работе / Г. Г. Исаев // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 1979. – № 5. – С. 390–393.
9. *Мищенко В. С.* Чувствительность и устойчивость реакций системы дыхания к гипоксии как отражение адаптации к напряженной спортивной тренировке / В. С. Мищенко, А. И. Павлик // Спортивная медицина. – 2008. – № 1. – С. 55–65.
10. Адаптация к гипоксии и гипероксии повышает физическую выносливость: роль активных форм кислорода и редокс сигнализации / Т. Г. Сазонов, О. С. Глазачев, А. В. Болотова [и др.] // Российский физиологический журнал . – 2002. – № 6. – С. 793–807.
11. *Северин Е. С.* Биохимия / Под ред. Северин Е. С. – М. : ГЭОТАР-Медиа. – 2004. – 521 с.

В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна, К. О. Шебалдова, О. Е. Марцинко

Дослідження актопротекторної активності нового антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3 після перенесеної гіпоксії замкнутого простору

На моделі гіпоксії замкнутого простору (ГЗП) досліджено вплив ВІТАГЕРМ-3 на витривалість і працездатність тварин у ранній постгіпоксичний період. Актопротекторну активність за умов профілактичного застосування ВІТАГЕРМ-3 на моделі ГЗП у мишей оцінювали за показниками тривалості плавального тесту. Як препарат порівняння було обрано відомий фармакотерапевтичний засіб протигіпоксичної дії – мексидол.

Встановлено, що на тлі застосування ВІТАГЕРМ-3 відбувається суттєве підвищення працездатності та динамічної витривалості організму. Це підтверджується підвищенням таких параметрів працездатності, як тривалість стабільного плавання мишей при диханні над поверхнею води, тривалість здійснення плавальних рухів при повному зануренні під воду та загальна тривалість плавання тварин до повної втоми. Усі показники в тварин дослідної та референтної груп не мають вірогідної різниці, проте відновлення працездатності після ГЗП на фоні застосування ВІТАГЕРМ-3 відбувається більш інтенсивно. Підтверджене в експерименті підвищення працездатності в тварин, які отримували з профілактичною метою ВІТАГЕРМ-3, є свідченням більш швидкого включення компенсаторно-адаптаційних механізмів.

Отже, застосування координаційної сполуки германію, що вивчається, після перенесеної ГЗП підвищує здатність тварин протистояти фізичному виснаженню. ВІТАГЕРМ-3 має виразну здатність підвищувати працездатність тварин за екстремальних умов.

Ключові слова: ВІТАГЕРМ-3, актопротекторна активність, антигіпоксант, гіпоксія замкнутого простору

В. Д. Лукьянчук, И. И. Сейфуллина, Е. А. Шебалдова, Е. Э. Марцинко

Исследование актопротекторной активности нового антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3 после перенесенной гипоксии замкнутого пространства

На модели гипоксии замкнутого пространства (ГЗП) исследовано влияние ВИТАГЕРМ-3 на выносливость и работоспособность животных в раннем постгипоксическом периоде. Актопротекторную активность при профилактическом применении ВИТАГЕРМ-3 при ГЗП у мышей оценивали по показателям плавательного теста. В качестве препарата сравнения было выбрано известное фармакотерапевтическое средство противогипоксического действия – мексидол.

Установлено, что на фоне применения ВИТАГЕРМ-3 происходит существенное повышение работоспособности и динамической выносливости организма. Это подтверждается повышением таких интегральных параметров работоспособности, как длительность стабильного плавания мышей при дыхании над поверхностью воды, длительность совершения плавательных движений при полном погружении под воду и общая длительность плавания животных до полной усталости. Все показатели у животных опытной и референтной групп не имеют достоверной разницы, но восстановление работоспособности после ГЗП на фоне применения ВИТАГЕРМ-3 происходит более интенсивно. Подтвержденное в эксперименте повышение работоспособности у животных, которые получали с профилактической целью ВИТАГЕРМ-3, является свидетельством более быстрого включения компенсаторно-адаптационных механизмов.

Таким образом, применение изучаемого координационного соединения германия после перенесенной гипоксии замкнутого пространства способствует повышению способности животных противостоять физическому истощению. ВИТАГЕРМ-3 обладает выраженной способностью повышать работоспособность в экстремальных условиях.

Ключевые слова: ВИТАГЕРМ-3, актопротекторная активность, антигипоксант, гипоксия замкнутого пространства

V. D. Lukyanchuk, I. I. Seifullina, K. O. Shebaldova, O. E. Martsinko

Actoprotective activity of the new antihypoxant VITAGERM-3 after hypoxia of an enclosed space

The aim of this study was to valuate the effect of VITAGERM-3 on the body's ability to withstand extreme physical exertion and the increase endurance and ability to work in the early posthypoxic period. Actoprotective activity in prophylactic use VITAGERM-3 under hypoxia of enclosed space in mice was assessed using some indicators of swimming test. As a reference drug well known drug with antihypoxic action - mexidol was chosen.

It was found that during the treatment with VITAGERM-3 there is a significant increase in disability and dynamic endurance of the body. This is confirmed by the increase of integral parameters such as the ability to work long-term stability of swimming mice breath above the water surface, the length gives excellent swimming movements when completely submerged under water and the total duration of swimming animals to full weariness. All parameters in animal of experimental and reference groups have no significant difference, but rehabilitation after hypoxia of enclosed space under VITAGERM-3 administration is more intense. The ability to work hardly in animals that received prophylactic VITAGERM-3, is an indication of a more rapid inclusion of compensatory-adaptive mechanisms.

In conclusion, administration of the studied coordination compound of germanium after hypoxia of enclosed space increases the ability of animals to resist physical exhaustion. VITAGERM-3 possesses the expressed ability to prevent the development of fatigue and increases the ability to work in extreme conditions

Key words: VITAGERM-3, actoprotective activity, antihypoxant, hypoxia of enclosed space

Надійшла: 19.01.2015 р.

Контактна особа: Лук'янчук Віктор Дмитрович, доктор медичних наук, професор, відділ фармакокінетики, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456-98-65. Електронна пошта: lvdlug@mail.ru

УДК 616-006.04:616-08:537.622.4

В. С. Мосієнко[1], Н. Ф. Кущевська[2], А. П. Бурлака[1], В. О. Шляховенко[1], С. М. Лукін[1], Л. К. Куртсеїтов[3], О. В. Карнаушенко[1], А. В. Вербиненко[1]

Дослідження протипухлинних властивостей феромагнітних наночастинок оксиду заліза та їхніх композитів на перещеплених пухлинах у мишей

[1]Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, м. Київ
[2]Міжнародний університет розвитку людини «Україна», м. Київ
[3]Головний військовий клінічний госпіталь, м. Київ

Ключові слова: протипухлинні властивості, феромагнітні наночастинки оксиду заліза, асцитний лімфолейкоз

У зв'язку з унікальними хімічними, фізичними, біологічними та фармакологічними властивостями наночастинок, багато вчених світу почали широко досліджувати наноматеріали різного походження та розробляти нові нанотехнології [1–4]. Науковий пошук спрямований на вивчення впливу наночастинок на біологічні об'єкти всіх рівнів живого від молекулярного до цілісного організму. Застосування сучасних нанотехнологій дає можливість отримати якісно нові лікарські препарати, підвищити ефективність лікування багатьох захворювань, у тому числі злоякісних пухлин [5–7]. Американський національний інститут здоров'я включив наномедицину в п'ятірку найпріоритетніших галузей медицини XXI століття. Учені Інституту вважають, що наночастинки та нанотехнології допоможуть успішно лікувати пацієнтів з різними формами онкологічних захворювань [8–10].

Бурхливий розвиток нанотехнологій у світі призвів до виникнення конвергентних технологій та синергетичних комбінацій головних галузей науки та техніки (N-nano-, B-bio-, I-info, C-cogno-) технології [11–14].

Металеві наночастинки та утворені ними нанокомпозити досліджені в медицині найбільше. Це наночастинки заліза, золота, міді, платини та інших металів. Новий клас органічних кластерних сполук, наночастинки на основі оксиду заліза, виявляють оригінальні фармакологічні властивості. Вони ефективно діють при лікуванні вірусних і пухлинних захворювань, анемії та імунодефіцитних станів організму.

Сьогодні існує нагальна потреба у вивченні фармакологічних та токсикологічних властивостей наночастинок заліза, дослідженні їхньої протипухлинної активності та побічних дій. Феромагнітні наночастинки заліза проникають крізь клітинні мембрани та гематоенцефалічний бар'єр і накопичуються в клітинах різних органів і тканин [15]. R. Elliott та співавт. [16] вважають, що головними проблемами досліджень в онкології XXI століття є вивчення обміну заліза в тканинах, порушення мітохондріального дихання в злоякісних клітинах та імуносупресивного стану хворих з пухлинною хворобою.

Феромагнітні наночастинки заліза викликають оксидативний стрес та запалення, що призводить до епігеномних і геномних змін у клітинах, які знаходяться в процесі поділу. Наночастинки заліза можуть блокувати реплікацію ДНК, викликати її метилювання, що призводить до зміни функціонування генів [17, 18]. Оксидативний стрес може змінювати шляхи внутрішньоклітинної передачі сигналів, включаючи фактор NF-kB. При пошкодженні ДНК наночастинками заліза можуть

© Колектив авторів, 2015

активуватись гени пухлинної супресії, як, наприклад, p-53, та запускатись механізми апоптозу, або навпаки, цей процес може зупинятись [19]. Феромагнітні наночастинки заліза утворюють пероксид водню, який є рушієм генерування високореактивних гідроксильних радикалів, продуктів перекисного окиснення ліпідів, ушкодження білків та нуклеїнових кислот. Збільшення концентрації заліза та метаболітів перекисного окиснення активують поліаміноксидазу, яка дезамінує (окислює) поліаміни та їхні прекурсори, що призводить до утворення високотоксичних альдегідів, які можуть пригнічувати ріст злоякісних клітин [20].

Таким чином, дослідження та впровадження в практику наночастинок та нанотехнологій зумовлюють швидку конвергенцію інших наук і технологій при вирішенні таких надскладних завдань, як діагностика, профілактика, лікування та реабілітація пухлинної хвороби.

Мета дослідження – вивчення впливу різних доз феромагнітних наночастинок оксиду заліза (ФНОЗ) та їхніх композитів у комбінації з інгібіторами синтезу поліамінів на ріст лімфолейкозу мишей L1210 та асцитної карциноми Ерліха.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на 300 нелінійних і лінійних мишах CDF1 і BDF1 обох статей масою 17–23 г, розводки віварію Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, яким після двотижневого карантину перещеплювали за стандартними методиками лімфолейкоз L1210 та асцитну карциному Ерліха. У черевну порожнину вводили по 300–500 тис. лейкозних клітин або клітин карциноми Ерліха в 0,2 мл стерильного фізіологічного розчину натрію хлориду. Пухлинні штами були отримані з клітинного банку ліній з тканин людини та тварин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України.

Дослідження проводили відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [21].

Феромагнітні наночастинки оксиду заліза були отримані Н. Ф. Кущевською за оригінальною методикою в співвідношенні 40 % Fe_2O_3 + 60 % Fe_3O_4 [8, 15]. Протилейкозну дію ФНОЗ оцінювали за динамікою росту лімфолейкозних клітин в асцитній суспензії, за її об'ємом, динамікою росту ваги тварин та середньою тривалістю життя мишей. Основні результати досліджень аналізували з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. З даних літератури відомо [17, 18], що більшість дослідників мало уваги звертають на дію самих феромагнітних наночастинок заліза й вивчають їх, в основному, як носії для конструювання нових лікарських засобів на базі вже відомих препаратів, з метою їхнього швидкого цільового транспортування та глибокого проникнення в патологічне вогнище чи пролонгування їхньої дії для підвищення протипухлинного або протизапального ефекту та зменшення побічних ускладнень.

При вивченні протипухлинної активності ФНОЗ ми застосовували десяту та соту дози від LD_{50} (8,41 г/кг маси тіла мишей), які вводили 3-разово перорально в об'ємі 0,3 мл дистильованої води кожного дня в профілактичному варіанті за три доби до перещеплення асцитної форми карциноми Ерліха.

Результатами профілактичного досліду виявлено, що темп росту асцитних ракових клітин протягом перших двох тижнів був найменшим у групі мишей, які отримували ФНОЗ у дозі 16 та 160 мг/мишу, і за перший тиждень він складав у середньому (0,10 ± 0,04) г, за другий – (1,20 ± 0,80) г. У контрольній групі мишей за цей період маса тварин збільшувалася в середньому на (1,9 ± 0,6) г та на (2,1 ± 0,6) г відповідно. У другій групі приріст ваги мишей мав тенденцію до збільшення, але він був нижчий, ніж у контрольній групі. Щодо середньої тривалості життя (СТЖ), то виявилося, що найбільшою вона була в мишей, які отримували ФНОЗ у дозі 16 мг/мишу і складала (27,8 ± 2,4) доби, порівняно з контрольною групою мишей, де СТЖ була (24,1 ± 2,7) доби. СТЖ в іншій піддослідній групі мишей мала тільки тенденцію до подовження. Слід зауважи-

ти, що жодна з таких великих доз, уведених мишам у профілактичному режимі, не призводила до стимуляції росту асцитної карциноми Ерліха.

У зв'язку з труднощами приготування розчину ФНОЗ у низьких дозах, оскільки частинки заліза не розчиняються у воді та спирті й збиваються в кластерні скопичення, для отримання рівномірної суспензії використовували наночастинки кремнію (препарат Силард, розроблений Інститутом хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України за нашої участі). В інших дослідах для отримання рівномірної суспензії додавали сахарозу, бентоніт, фулерен C_{60} («Вода життя») у певних пропорціях. У дослідах застосовували також інгібітори синтезу поліамінів дифторметилорнітин (ДФМО) та метилгліоксаль-біс-гуанідилгідразон (МГБГ), які блокують синтез поліамінів на різних етапах метаболізму.

ФНОЗ та їх композити вводили перорально в об'ємі 0,3 мл водної суспензії щоденно в кількості 10–12 уведень на курс, починаючи з наступної доби після перещеплення лімфолейкозних клітин L1210.

У дослід взято 50 мишей-самиць лінії CDF1. Їм перещеплювали лімфолейкозні клітини L1210, після чого розподіляли на 5 груп по 10 мишей у кожній. I група – контрольна, II група – тварини, яким щоденно вводили перорально композит ФНОЗ (5 мкг + 250 мкг SiO_2) на одну мишу в об'ємі 0,2 мл дистильованої води в кількості 10 уведень; III група – тварини, яким вводили композит ФНОЗ 50 мкг на одну мишу за вище описаною схемою; IV група – тварини, яким вводили композит ФНОЗ 500 мкг на одну мишу за такою самою схемою; V група – тварини, яким вводили ФНОЗ 50 мкг на одну мишу без оксиду кремнію.

Найефективнішим виявився композит ФНОЗ (50 мкг на одну мишу) з оксидом кремнію та один ФНОЗ (50 мкг), середня тривалість життя мишей складала (18,5 ± 0,3) доби та (18,3 ± 0,5) доби відповідно. У другій і четвертій групі тварин середня тривалість життя мало відрізнялася від мишей контрольної групи, яка складала (17,0 ± 0,5) доби (рис. 1).

При подальшому вивченні впливу ФНОЗ у дозі 50 мкг + 250 мкг бентоніту на одну мишу та ФНОЗ у такій самій дозі плюс 500 мкг сахарози виявилось, що композити з ФНОЗ по-різному впливали на середню тривалість життя порівняно з групою мишей, які отримували один ФНОЗ і складала відповідно (18,3 ± 0,6) доби, (18,0 ± 0,5) доби та (17,4 ± 0,4) доби, у контрольній групі вона складала (17,1 ± 0,5) доби (рис. 2).

При аналізі динаміки маси тіла тварин було показано, що вона змінюється хвилеподібно з найменшими змінами в групі, яка отримувала ФНОЗ з бентонітом.

У наступному досліді вивчали вплив ФНОЗ у дозі 50 мкг/мишу на лімфолейкоз L1210 разом із фулереном C_{60} («Вода життя»), який був запропонований Г. В. Андрієвським як БАД [22]. Розчин фулерену C_{60}, за даними автора, структурує воду, яка становиться подібною до структури води нормальних тканин організму людини. Цей розчин нормалізує обмінні процеси в клітинах організму, особливо при різних патологічних станах, має антиоксидантні, протиза-

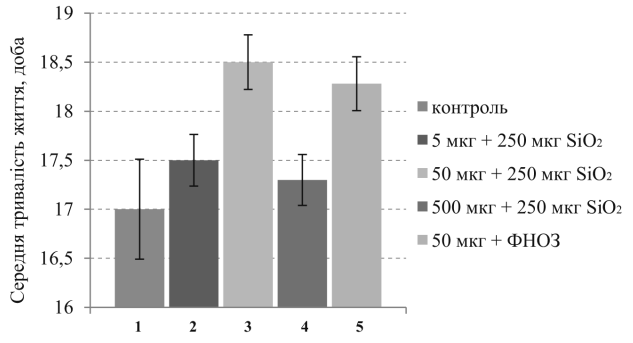


Рис. 1. Середня тривалість життя мишей з перещепленим лімфолейкозом L1210 при лікуванні феромагнітними наночастинками оксиду заліза та його композитом з SiO_2 у різних дозах

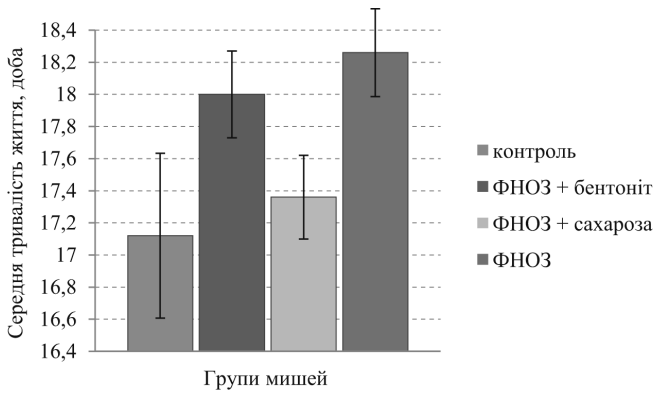


Рис. 2. Середня тривалість життя мишей з перещепленим лімфолейкозом L1210 при лікуванні феромагнітними наночастинками оксиду заліза в дозі 50 мкг на одну мишу та їхніх композитів з бентонітом і сахарозою

пальні та протипухлинні властивості. Гідратований розчин фулерену C_{60} запатентований у Російській Федерації як харчова добавка. Фулерен C_{60} вводили мишам перорально вранці й наприкінці робочого дня щоденно в об'ємі 0,7 мл у кількості 10 уведень через 30 хв після введення ФНОЗ. Іншим групам мишей з перещепленим лімфолейкозом вводили ДФМО через один день у черевну порожнину в дозі 16 мг/мишу в кількості 6 ін'єкцій або МГБГ у дозі 0,2 мл/мишу за такою самою схемою. На 9 добу після перещеплення лімфолейкозу в 3 мишей з 10 у кожній групі забирали всю асцитну рідину з черевної порожнини, печінку, нирки, кров, лімфолейкозні клітини для досліджень на спектрометрі ЕПР, а також тонкий і товстий кишківник для визначення мітотичного індексу клітин епітелію цих органів.

При аналізі досліду виявилось, що об'єм асцитної рідини у мишей з лімфолейкозом був найбільшим у групі тварин, які отримували фулерен C_{60}, і складав у середньому 9,3 мл порівняно з 8,3 мл у контрольній групі мишей. В інших групах мишей об'єм асцитної рідини був меншим ніж у контрольній групі. Кількість лімфолейкозних клітин найбільшою була в контрольній групі мишей та в групі тварин, які отримували фулерен C_{60} і складала в середньому $1385 \cdot 10^6$ та $1431 \cdot 10^6$, а найменша – у групах мишей, які отримували ДФМО, ФНОЗ, МГБГ, і складала в середньому відповідно $550 \cdot 10^6$, $977 \cdot 10^6$, $977 \cdot 10^6$ клітин. У групі мишей, які отримували ФНОЗ і фулерен C_{60}, кількість лейкозних клітин мало чим відрізнялася від показників у контрольній групі.

Маса тіла мишей у динаміці змінювалася по-різному. Різниця між вихідною та кінцевою масою тіла мишей при лікуванні тільки ФНОЗ складала 0,38 г, найбільший приріст маси тіла мишей був у групі, яка отримувала один ДФМО та фулерен C_{60}, і складав 1,10 г та 0,62 г відповідно. Найменший приріст ваги був у групі мишей, які отримували МГБГ, і в тварин контрольної групи був негативним відповідно –0,88 г і –0,2 г (рис. 3).

Різниця між вихідною та кінцевою масою тіла мишей корелювала з об'ємом асцитної рідини лімфолейкозу L1210 в окремих групах мишей. Щодо різниці маси тіла тварин, які отримували МГБГ, і в контрольній групі, то вона виявилась від'ємною, хоча об'єм асцитної рідини в мишей цих груп був набагато більшим, ніж в інших піддослідних групах. Це говорить про те, що токсичний вплив лімфолейкозних клітин та модулятора поліамінів МГБГ на організм мишей був значно більшим, ніж у групах тварин, які отримували наночастинки оксиду заліза та фулерен C_{60}, і що ці наночастинки зменшують або нейтралізують цей негативний вплив, і таким чином підвищують протипухлинну резистентність організму.

Середня тривалість життя мишей з лімфолейкозом L1210 виявилася найбільшою в групі тварин, які отримували лише ФНОЗ, і складала (19,9 ± 1,3) доби (10,5 %) та в групі мишей, які отримували ФНОЗ + ДФМО, де вона

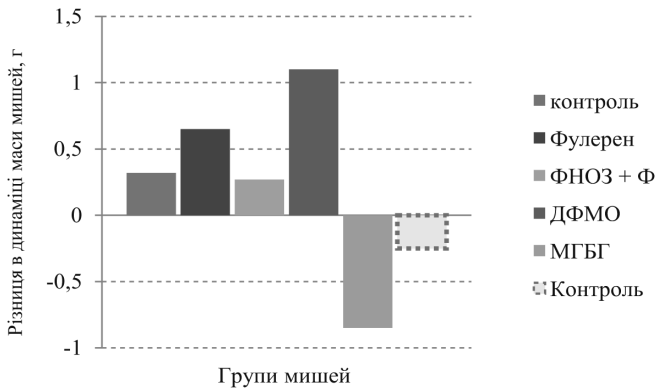


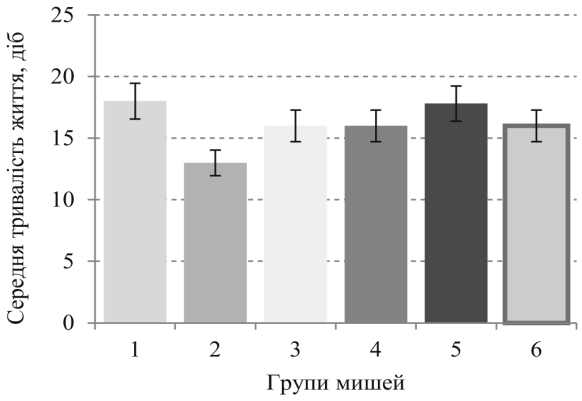
Рис. 3. Різниця ваги тіла мишей з лімфолейкозом L1210 між вихідними та кінцевими даними маси тіла мишей при лікуванні феромагнітними наночастинками оксиду заліза, фулереном С60, їхнім композитом, а також модуляторами обміну поліамінів

була (18,6 ± 1,6) доби, порівняно з середньою тривалістю життя контрольних мишей – (17,0 ± 1,4) доби, а найменша тривалість життя виявилася в групі мишей, які отримували тільки фулерен C_{60} і самостійно МГБГ, і складала в середньому (13,6 ± 1,2) доби та (17,1 ± 1,4) доби відповідно (рис. 4).

Методом ЕПР вивчали вплив різних доз ФНОЗ на активність FeS- білків – N-2 мітохондрій, активність цитохрому Р-450, генерування супероксидних та NO-радикалів у нирках, печінці, нейтрофілах периферичної крові та лімфолейкозних клітинах L1210 *in vivo*, використовуючи технологію спінового уловлювача за допомогою комп'ютеризованого радіоспектрометра ЕПР РЕ 1307. Як відомо [23], значне зростання рівнів генерування радикалів кисню в лейкозних клітинах призводить до підвищення рівня їхньої загибелі.

При курсовому лікуванні ФНОЗ виявилося, що наночастинки оксиду заліза нормалізують транспорт електронів у мітохондріях, активують mNOS, покращують окисне фосфорилювання та знижують рівень супероксидних радикалів. Показано, що ФНОЗ також знижують рівень NO-радикалів у лейкозних клітинах, а це призводить до зменшення темпу їхнього росту та нормалізує активність у печінці цитохрому Р-450.

Отже, узагальнюючи отримані результати досліджень за ЕПР-спектрограмами, зроблено висновок, що ФНОЗ діють на енергетичний потенціал мітохондрій та кисневий обмін



1 – феромагнітні наночастинки оксиду заліза; 2 – фулерен C_{60}; 3 – феромагнітні наночастинки оксиду заліза + фулерен C_{60}; 4 – контроль; 5 – дифторметилорнітин + феромагнітні наночастинки оксиду заліза; 6 –метилгліоксаль-біс-гуаніділгідразон

Рис. 4. Середня тривалість життя мишей з перещепленим асцитним лімфолейкозом L1210 при лікуванні феромагнітними наночастинками оксиду заліза в дозі 50 мкг на мишу та композитом фулереном C_{60}, у комбінації з дифторметилорнітином і метилгліоксаль-біс-гуаніділгідразоном

лейкозних і нормальних клітин та нейтрофілів периферичної крові організму, підвищують детоксикуючу активність паренхіматозних органів (у першу чергу, печінки), змінюють рівень NO і, таким чином, зменшують імуносупресивність і в цілому підвищують протипухлинну резистентність організму.

У зв'язку з тим, що організм з пухлиною знаходиться в імуносупресивному стані [24, 25], нами було досліджено вплив ФНОЗ на імунні механізми мишей з лімфолейкозом L1210. Відомо, що майже 70 % імунних клітин знаходиться в тонкому та товстому кишківниках, а ФНОЗ вводили саме через шлунково-кишковий тракт.

Нами було проведено дослідження мітотичної активності епітелію тонкого кишківника та печінки в мишей під дією курсової дози ФНОЗ та їхніх композитів. Мітотичний індекс (МІ, %) розраховували за формулою:

$$\text{МІ} = \frac{\text{контроль} - \text{дослід}}{\text{контроль}} \cdot 100$$

Отримані результати свідчать, що МІ у тонкому кишківнику мишей з лімфолейкозом L1210 підвищувався в досліджуваних групах по-різному: найбільшим він виявився в групі мишей, які отримували ФНОЗ + фулерен C_{60}, нижчий рівень цього показника порівняно з контрольними тваринами виявився в групі мишей, яким вводили один фулерен C_{60} чи ФНОЗ (рис. 5, таблиця).

Приведені вище дані свідчать про наявність впливу на мітотичну активність епітелію тонкого кишківника досліджуваних сполук, особливо при

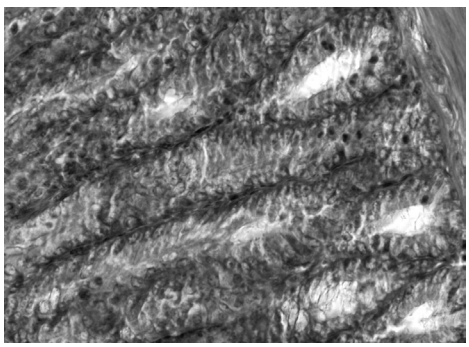


Рис. 5 Підвищення мітотичної активності в криптах тонкого кишківника при застосуванні феромагнітних наночастинок оксиду заліза + фулерен C_{60}. Гематоксилін- еозин. Зб. × 200.

застосуванні ФНОЗ + фулерен C_{60}, а це значить, що імунні механізми активуються під дією ФНОЗ та їхнього композиту. Тим більше, що проведені гістологічні дослідження печінки мишей у вищеназваних групах виявили активацію клітин ретикулоендотеліальної системи та екстрамедулярного кровотворення, що свідчить про наявність імунних перебудов в органах і системах піддослідних тварин. Найбільший ступінь вираженості цього показника був у печінці групи мишей, яким вводили тільки ФНОЗ.

У наступному досліді при дослідженні впливу малих доз ФНОЗ, 4 та 20 мкг/мишу (11 введень), уведених перорально мишам з лімфолейкозом L1210 на наступну добу після перещеплення, були отримані найкращі терапевтичні результати. Найбільша СТЖ виявилася в групі мишей, які отримували 4 мкг/мишу ФНОЗ, і складала (19,0 ± 2,1) доби порівняно з контрольною

Таблиця

Мітотичний індекс епітелію тонкого кишківника мишей після курсового лікування феромагнітними наночастинками оксиду заліза, фулереном C_{60} та їхнім композитом

Показник	Група тварин			
	Вода дистильована (контроль)	Фулерен C_{60}	Феромагнітні наночастинки оксиду заліза + фулерен C_{60}	Феромагнітні наночастинки оксиду заліза
МІ, ‰	27,80 ± 4,25	46,30 ± 5,54*	57,40 ± 5,72*	39,20 ± 1,66
Збільшення мітотичної активності, %	-	66,6	106,5	14

*Примітка. *$p \le 0,05$ – вірогідно відносно контролю.*

групою мишей, де СТЖ була (14,8 ± 1,4) доби. Така доза виявилася найефективнішою й статистично значимо ($P < 0,05$) подовжувала середню тривалість життя мишей з лімфолейкозом L1012.

Таким чином, було встановлено, що феромагнітні наночастинки оксиду заліза при пероральному введенні в малих дозах (2–50 мкг/мишу) затримують ріст асцитних лейкозних клітин L1210, зменшують об'єм асцитної рідини та подовжують середню тривалість життя мишей на 7–28,0 % залежно від отриманої дози. Для одержання рівномірної суспензії ФНОЗ були створені наступні композити на основі: SiO_2 (препарат Силлард), бентоніт, сахароза, фулерен C_{60}, які по-різному впливали на протилейкозну дію ФНОЗ. У терапевтичних дослідах показано, що фулерен C_{60} стимулює ріст лейкозних клітин, наночастинки SiO_2 і бентоніт суттєво не впливають на ріст лейкозних клітин і суттєво не подовжують життя мишей порівняно з контрольними тваринами. Зроблено висновок, що використання наночастинок заліза як транспортного, цільового засобу, мабуть, не завжди може тільки підсилювати протипухлинну активність, але може виявляти й зворотний негативний ефект. Лікування ФНОЗ у комбінації з інгібіторами поліамінів ДФМО і МГБГ мишей з лімфолейкозом L1210 також суттєво не збільшувало тривалість їхнього життя порівняно з одним ФНОЗ.

При вивченні механізмів дії методом ЕПР-спектроскопії було встановлено, що ФНОЗ підсилює транспорт електронів у мітохондріях лейкозних і нормальних клітин, причому більше виражена дія ФНОЗ була в злоякісних клітинах, що сприяло зниженню рівня супероксидних радикалів. При цьому в мітохондріях клітин знижується рівень NO-радикалів. Наночастинки заліза підвищують майже в два рази активність цитохрому Р-450 печінки, що збільшує протипухлинну резистентність організму.

Оскільки значна кількість імунних клітин знаходиться в тонкому кишківнику, нами досліджено мітотичний індекс епітелію тонкого кишківника. Показано, що під дією ФНОЗ та його композитів статистично значимо підвищується мітотичний індекс, а це говорить, що ФНОЗ впливає не тільки на кисневий обмін, а й підвищує захисні імунні механізми організму з пухлиною.

Отримані позитивні дані в терапевтичних дослідах на перещепленому лімфолейкозі L1210 дають підстави стверджувати про перспективність подальших досліджень, які, вірогідно, пов'язані з циторегулюючими механізмами впливу ФНОЗ на злоякісні клітини.

Висновки

1. При курсовому пероральному введенні ФНОЗ мишам з лімфолейкозом L1210 найбільший протипухлинний ефект спостерігали при застосуванні доз від 2 до 50 мкг/тварину. Високі дози не викликали достовірно значимої протилейкозної дії в мишей з перещепленим лімфолейкозом L1210.

2. При лікуванні ФНОЗ та їхніми композитами в комбінації з інгібіторами синтезу поліамінів спостерігали як позитивний, так і негативний протипухлинний ефект. Усі використані в дослідах композити, за виключенням Силарду, не підвищували протилейкозну дію ФНОЗ відносно штаму L1210.

3. При дії феромагнітних наночастинок оксиду заліза підвищуються енергетичні та імунологічні показники організму з пухлиною, які призводять до затримки росту перещеплених лейкозних клітин у мишей.

1. *Гусев А. Й.* Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. 2-е изд. исправ. / А. Й. Гусев.– М.:Физматмет, 2007.– 416 с.
2. Наноматериалы и нанокомпозиты в медицине, биологии, экологии. Под ред. А. Я. Шпак, В. Ф. Чехун, составители: П. П. Горбин, В. В. Туров. – К. : Наукова думка, 2011.– 444 с.
3. *Шимановский Н. Я.* Нанотехнологии в современной фармакологии / Шимановский Н. Я. // Межд. мед. журнал. – 2009. – № 1. – С. 131–135.
4. *Sahoo S.* The presrnt and future of nanotechnology in human health care / Sahoo S. K., Parveen S., Panda Z. Z. // Nanomedicine. – 2007. – V. 3, №1, – P. 20–31.
5. *Рыбалкина М.* Нанотехнология для всех / Рыбалкина М. – М. : Nanotechnology News Network, 2005. – 444 с.

6. *Чекман І. С.* Нанотехнологія: вплив наночастинок на клітину / Чекман І. С., Говоруха М. О., Дорогинская А. М. // Укр. Мед. часопис. – 2011. – № 1. – С. 30–35.
7. *Ferrari M*. Cancer nanotechnology opportunities and challenges / Ferrari M. // Nat.Rev.Cancer. – 2005. – № 3. – P. 161–171.
8. *Кущевская Н.* Наноразмерные порошки ферромагнетиков, полученных термическим способом и возможные пути биомедицинского назначения / Кущевская Н. // Порошк. метал. – 2006. – № 7/8. – С. 116–121.
9. Nanoparticles human health hazard and regulation / Seaton A., Tran L., Aitken R. [et al] // J. R. Soc. Interface – 2000. – № 7. – P. 119–129.
10. *Zlatnic E. Y.* Antitumor effect of metallic nanoparticles / Zlatnic E. Y., Peredrava L. V., Zakora Y. I. // Exp. Oncol. – 2010. – № 32 (Suppl.) – P. 85.
11. *Прайда В.* Феномен NBIC – конвергенции. Реальность и ожидание / Прайда В., Медведева Д. А. // Философские науки. – 2008. – № 1. – С. 97–117.
12. *Roco M. C*. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine / Roco M. C. // Curr. Drin. Biotechnol. – 2003. – № 14.– P. 337–346.
13. *Чекман І. С.* Конвергентні технології – нанобіомедичний аспект / І. С. Чекман, Т. Ю. Небесна, А. М. Дорошенко // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 3/4. – С. 25–27.
14. Converging tehnologics, shifting bounclaries. / Swierstra T., Boenink M., Wolhout B., van Est R.// Nanothics. – 2009. – № 3 – P. 213–216.
15. Фізико-хімічні, фармако-токсикологічні та протипухлинні властивості феромагнітних наночастинок заліза (Експериментальні дослідження) / В. С. Мосієнко, Н. Ф. Кущевська, А. П. Бурлака [та ін.] // Онкологія. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 13–18.
16. Cancer: Tumor Iron Metabolism, Mitochondrial Dysfunction and Tumor Immunosuppression; «A Tight Partnership – Was Warburg Correct?» / Robert I. Elliott, Jonathan F. // Head.Journal of Cancer Therapy. – 2012. –№ 3. – С. 278–311.
17. Free radicals metalls and antioxidants in oxidative strees induced cancer / Valco M., Rhodes C. J., Moncol J. [et al.] // Chem. Biol. Interact. – 2006. – № 1. – P. 1–40.
18. Inflammatory properties of iron-containing carbon nanoparticles / Waldman W. J., Kristovich R., Knigt D. [et al.] // Chem. Res. Tocsicol. – 2007. – № 8. – P. 1149–1154.
19. Cancer p53 guardian of the genome / Lane D. P. // Nature. – 1992. – № 638. – P. 15–16.
20. *Tipnis U. R*. Diferential induction of poliamine oxidase activity in liver and heart of iron – overloaded rats. J. tocsic. environment / U. R. Tipnis, J. Y. He, M .F. Khan // Health. – 1997. – V. 51, № 3. – P. 235–244.
21. *Добреля Н. В*. Розвиток європейського законодавства в сфері використання тварин у наукових експериментах / Н. В. Добреля, Є. В. Стрелков, Т. А. Бухтіарова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014.– № 2. – С. 88–90.
22. Изучение противоопухолевого действия коллоидных растворов фуллеренов / И. С. Буренин, Н. И. Полянская, Иалуева, Г. В. Андриевский // Рос. биотерап. журнал. – 2003. – № 1. – С. 16–18.
23. *Бурлака А. П.* Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі / Бурлака А. П., Сидорик Є. П. – К. : Наукова думка, 2006. – 228 с.
24. Биологические методы лечения онкологических заболеваний. Под ред. Т. Де Вито [и др.]. – М. : Медицина, 2002. – 918 с.
25. Биотерапия опухолевой болезни / В. С. Мосиенко, В. А. Шляховенко, Ю. В. Яниш [и др.] // Лучевая диаг. Лучевая терапия. – 2013. – № 2–3. – С. 76–87.

В. С. Мосієнко, Н. Ф.Кущевська, А. П. Бурлака, В. О. Шляховенко, С. М. Лукін, Л. К. Куртсеїтов, О. В. Карнаушенко, А. В. Вербиненко

Дослідження протипухлинних властивостей феромагнітних наночастинок оксиду заліза та їхніх композитів на перещеплених пухлинах у мишей

Феромагнітні наночастинки оксиду заліза (ФНОЗ) у зв'язку з унікальними фармакологічними властивостями широко вивчаються для отримання якісно нових лікарських препаратів, у тому числі для лікування злоякісних пухлин.

Мета дослідження – вивчення впливу різних доз ФНОЗ та їхніх композитів у комбінації з інгібіторами синтезу поліамінів на ріст лімфоїдної лейкемії L1210 та асцитної карциноми Ерліха в мишей.

У терапевтичних і профілактичних дослідах вивчено вплив різних доз ФНОЗ, їхніх композитів та інгібіторів синтезу поліамінів дифторметилорнітину та метилгліоксаль-біс-гуанідилгідразону на ріст асцитного перещепленого лімфолейкозу L1210 та асцитної карциноми Ерліха в мишей.

Показано, що ФНОЗ у терапевтичних дозах 2–50 мкг/мишу (LD_{50} – 8,41 г/кг маси) при пероральному введенні виявилися найефективнішими для цих штамів. Середня тривалість життя мишей, які отримували ФНОЗ та їхні композити залежала від дози, схеми та комбінації лікування й була більшою на 7–28 % порівняно з контрольними тваринами. ФНОЗ у комбінації з інгібіторами поліамінів суттєво не збільшували середню тривалість життя мишей з перещепленим лімфолейкозом L1210.

Показано, що ФНОЗ здатні змінювати прооксидантні та оксидантні системи, знижувати окисний фенотип мітохондрій лейкозних клітин і паренхіматозних органів, рівень активних форм цитохрому Р-450 та зменшувати продукування NO-радикалів у мітохондріях клітин. Під дією ФНОЗ та їхніх композитів підвищується мітотичний індекс клітин епітелію тонкого кишківника та печінки, що говорить про зростання протипухлинної резистентності організму.

Встановлено, що при курсовому лікуванні мишей з асцитним лімфолейкозом L1210 ФНОЗ та їхніми композитами можна отримати значний протипухлинний ефект без застосування цитотоксичних протипухлинних препаратів.

Ключові слова: протипухлинні властивості, феромагнітні наночастинки оксиду заліза, асцитний лімфолейкоз

В. С. Мосиенко, Н. Ф. Кущевская, А. П. Бурлака, В. А. Шляховенко, С. Н. Лукин, Л. К. Куртсеитов, Е. В. Карнаушенко, А. В. Вербиненко

Исследования противоопухолевых свойств ферромагнитных наночастиц оксида железа и их композитов на перевивных опухолях у мышей

Ферромагнитные наночастицы оксида железа (ФНОЖ) в связи с уникальными фармакологическими свойствами интенсивно исследуются с целью получения качественно новых лекарственных средств, в том числе противоопухолевых препаратов.

Цель исследования – изучить влияние разных доз ФНОЗ и их композитов в комбинации с ингибиторами синтеза полиаминов на рост лимфоидной лейкемии L1210 и асцитной карциномы Эрлиха у мышей.

Показано, что при пероральном введении наиболее эффективными оказались дозы ФНОЖ от 2 до 50 мкг/мышь (при LD_{50} – 8,41 г/кг). Средняя продолжительность жизни мышей, которых лечили ФНОЖ, зависела от дозы, состава композита, схемы лечения и оказалась на 7–28 % больше по сравнению с контрольными животными. ФНОЖ в комбинации с ингибиторами синтеза полиаминов ДФМО и МГБГ достоверно не увеличивали среднюю продолжительность жизни мышей по сравнению с контрольными животными. Показано, что ФНОЖ влияют на прооксидантные и оксидантные системы, уровень радикалов кислорода, кислородный фенотип митохондрий лейкозных клеток и клеток паренхиматозных органов, повышают уровень активных форм цитохрома Р-450 в печени, снижают продуцирование NO-радикалов в митохондриях клеток. Под действием ФНОЖ и их композитов повышается митотический индекс эпителия тонкого кишечника и печени. В опытах на перевивных асцитных штаммах L1210 и карциноме Эрлиха показано, что при пероральном курсовом введении ФНОЖ и их композитов в низких дозах удалось добиться значительного противоопухолевого эффекта без применения цитотоксических противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: противоопухолевые свойства, ферромагнитные наночастицы оксида железа, асцитный лимфолейкоз

V. S. Mosiyenko, N. F. Kushchevskaya, A. P. Burlaka, V. A. Shlyakhovenko, S. M. Lukin, L. K. Kurtseitov, O. V. Karnaushenko, A. V. Verbynenko

Investigation of anticancer properties of ferromagnetic iron oxide nanoparticles and their composites on transplantable tumors in mice

Ferromagnetic iron oxide nanoparticles (IONP) are widely studied to obtain qualitatively new drugs, and for the treatment of malignant tumors due to the unique pharmacological properties. The aim of the study was to investigate the effect of different doses of ferromagnetic iron oxide nanoparticles and their composites in combination with inhibitors of the polyamine synthesis on the growth of lymphoid leukemia L1210 and ascitic Ehrlich carcinoma in mice.

In therapeutic and prophylactic experiments the effect of different doses of ferromagnetic iron oxide nanoparticles and their composites and inhibitors of polyamine synthesis (DFMO, MGBH) has been studied on the growth of transplanted lymphocytic leukemia L1210 and Ehrlich ascite carcinoma in mice.

It was shown that IONP in doses of 2 to 50 μg/mouse after oral administration were the most effective. The average life span of mice treated with IONP or their composites, depends on dose and treatment regimen and was greater at 7–29 % compared to control animals. IONP in combination with inhibitors of polyamine synthesis does not significantly increased the life expectancy of mice with ascites transplanted lymphocytic leukemia L1210.

The IONP are able to change prooxidative and oxidant system, the level of singlet oxygen, oxidative mitochondrial phenotype of leukemia cells and parenchymal organs, the level of active forms of cytochrome P-450 and reduce NO production in the mitochondria of cells. Under the influence of IONP and their composites mitotic index of epithelial cells of the small intestine and liver increased , indicating the increase in antitumor resistance of the organism.

We prove that the iron nanoparticles and their composites can achieve significant antitumor effect on lymphocytic leukemia L1210 ascites without using of cytotoxic anticancer drugs.

Key words: anticancer properties, ferromagnetic iron oxide nanoparticles, ascite lympholeukemia

Надійшла: 29.12.2014 р.

Контактна особа: Мосієнко Володимир Сергійович, доктор медичних наук, провідний науковий співробітник, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, буд. 45, вул. Васильківська, м. Київ, 03022. Тел.: + 38 0 44 259 91 95.

УДК 577.164.15+[546.289+577.164.15]:577.115.3:616.12-008.46:612.08

І. В. Ніженковська[1], В. П. Нароха[1], О. В. Кузнецова[1], Т. С. Брюзгіна[1], І. Й. Сейфулліна[2], О. Е. Марцинко[2], О. А. Чебаненко[2]

Вплив нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів і гепатоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю

[1]Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ
[2]Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Ключові слова: нікотинова кислота, МІГУ-1, насичені та ненасичені жирні кислоти, серцева недостатність, доксорубіцин

Першопричиною багатьох захворювань серця є порушення метаболічних процесів на клітинному й субклітинному рівнях. Для корекції порушень використовується велика кількість лікарських препаратів, які певною мірою можна віднести до мембраностабілізуючих засобів, що також зменшують накопичення вільних радикалів і активних форм кисню (АФК). Доведено зв'язок серцево-судинних захворювань (ССЗ) із жирнокислотним складом ліпідів їжі, крові, тканин [1]. Жирні кислоти (ЖК) беруть участь у біохімічних процесах у клітинах: у міокарді насичені жирні кислоти (НЖК) виконують функцію основного енергетичного субстрату [2]. У фізіологічних умовах НЖК у складі тригліцеридів (ТГ) потрапляють у клітину через апоЕ/В100-рецептори ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) шляхом активного транспорту, який є основним, тоді як пасивна дифузія НЖК у клітину залежить від концентрації ЖК у крові [3].

Ненасичені жирні кислоти (ННЖК) як структурні компоненти фосфоліпідів мембран є важливим фактором функціонування мембранозв'язаних білків та регулювання транспорту речовин через плазматичні мембрани клітин. Крім цього, ННЖК арахідонова кислота є субстратом синтезу простаноїдів – однієї з груп регуляторів біохімічних реакцій у живому організмі. Дослідження засвідчують здатність ННЖК потенціювати оксидативний стрес [4].

Серед основних стратегій, спрямованих на зниження чисельності ССЗ, важлива роль відводиться пошуку кардіопротекторних засобів (антиоксидантні препарати; стимулятори цитопротекторів; препарати, що знижують рівень ліпідів) різної хімічної будови. Нікотинова кислота впродовж останніх 50 років широко використовується для корекції дисліпідемії та профілактики ССЗ. Численні дослідження механізму дії нікотинової кислоти, виконані *in vitro* та *in vivo*, свідчать про її здатність інгібувати активність печінкової діацилгліцеролацилтрансферази-2 – ключового ферменту синтезу ТГ, що формують ЛПДНЩ. У жировій тканині нікотинова кислота пригнічує ліполіз ТГ шляхом інгібування гормон-чутливої тригліцеридліпази. Завдяки даним механізмам нікотинова кислота здатна до модифікації ліпідного профілю плазми, пов'язаного зі збільшенням рівня ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), зниженням ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ТГ [5, 6]. Нікотинова кислота проявляє антиоксидантні властивості, підвищуючи редокс-потенціал в ендотеліальних клітинах артерій. Доведено, що нікотинова кислота інгібує запалення ендотелію шляхом зниження утворення АФК і наступного

© Колектив авторів, 2015

окиснення ЛПНЩ, а також продукції цитокінів, ключових етапів атерогенезу [7]. Вивчення механізму розвитку вазодилатації під час прийому нікотинової кислоти показало, що вона стимулює синтез простагландинів D_2 і E_2 в епітеліальних клітинах Лангерганса через рецептор PR109A, який сполучений з G-білком [8].

Вищезазначене відкриває перспективи більш широкого використання лікарських препаратів на основі нікотинової кислоти для лікування й профілактики ССЗ. Особливу увагу вчених привертають нові комплексні сполуки германію з біолігандами, що відрізняються багатовекторністю фармакологічної дії та низькою токсичністю [9, 10]. Це теоретично обґрунтовує доцільність експериментального дослідження нової комплексної сполуки германію з нікотиновою кислотою за умов моделювання хронічної серцевої недостатності.

Мета дослідження – вивчити зміни жирнокислотного складу ліпідів кардіоміоцитів та гепатоцитів у щурів з моделлю хронічної серцевої недостатності та оцінити ефективність їхньої корекції за допомогою препарату нікотинової кислоти та нової комплексної сполуки германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1).

Матеріали та методи. Дослідження проводили на статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г. Догляд за тваринами (включаючи евтаназію) здійснювали згідно із Директивою Європейського Союзу 2019/10/63 EU про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [11], і відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [12]. Тварин утримували на звичайному збалансованому харчовому раціоні та вільному доступі до води в умовах віварію Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

У дослідах були використані доксорубіцин-КМП у формі ліофілізованого порошку для приготування розчину для ін'єкцій по 0,01 г (виробник ВАТ «Київмедпрепарат», Україна), нікотинова кислота (ніацин), порошок кристалічний (субстанція) (виробник Aarti Drugs Ltd, Індія) та комплекс нікотинової кислоти з германієм (лабораторний шифр МІГУ-1), уперше синтезований у лабораторії кафедри загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Тварин методом випадкової вибірки було розподілено на 4 групи по 10 тварин у кожній: 1 група – тварини, яким щотижня протягом 5 тижнів внутрішньом'язово вводили 0,9 % NaCl (контроль); 2 група – тварини, яким 5 тижнів вводили внутрішньом'язово доксорубіцин з розрахунку 5 мг/кг/тиждень (експериментальна хронічна серцева недостатність (ХСН) [13]; 3 група – тварини, які протягом 5 тижнів отримували внутрішньом'язово доксорубіцин на тлі внутрішньоочеревинного введення нікотинової кислоти в дозі 10 мг/кг/день (нікотинова кислота); 4 група – тварини, які протягом 5 тижнів отримували внутрішньом'язово доксорубіцин на тлі внутрішньоочеревинного введення комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) у дозі 10 мг/кг/день. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом з наступною екстирпацією серця та печінки.

Газохроматографічне визначення ЖК ліпідів у тканинах. Наважку тканини кількістю 0,3–0,5 г поміщали в гомогенізатор, одержаний гомогенат переносили в мірну пробірку об'ємом 10 мл із притертою пробкою та заливали хлороформ-метаноловою сумішшю (5 мл у співвідношенні 2 : 1) (на основі методу Фолча) і витримували протягом 30 хв у холодильнику [14]. Для кращого розподілу фаз додавали 1 мл дистильованої води. Далі піпеткою Пастера відбирали нижню хлороформну фазу. Для повної реакції етап екстракції повторювали двічі. Об'єднані хлороформні екстракти концентрували випаровуванням до об'єму однієї краплі під струменем газоподібного азоту за температури 45 °С на водяній бані. До сухого осаду ліпідів додавали 5 мл 1 % розчину H_2SO_4 у метанолі та переноси-

ли розчин у скляну ампулу ємністю 10 мл. Після запаювання ампули проводили гідроліз та метилування (на основі методу Синяка) у термостаті за 85 °С протягом 20 хв [15]. Екстракцію метильованих ЖК проводили двічі гексан-ефірною сумішшю (у співвідношенні 1:1) у кількості 5 мл. Для розподілу фаз додавали 1 мл дистильованої води. Верхню фазу відбирали піпеткою Пастера. Об'єднані екстракти випарювали досуха в потоці газоподібного азоту за 45 °С на водяній бані. Сухий осад розчиняли в 40–50 мкл чистого гексану та вносили у випарювач хроматографа в кількості 5 мкл. Газохроматографічний аналіз спектра ЖК ліпідів здійснювали на газовому хроматографі «Цвет-500» (Росія) з полум'яно-іонізаційним детектором в ізотермічному режимі за таких умов: скляна колонка (розміром 3 м х 0,3 см), заповнена фазою 5 % поліетиленгліколю сукцинату на хроматоні N-AW-HMDS (зернистість – 0,125–0,160 мм), температура колонки – +180 °С, температура випарювача – +250 °С, витрати азоту та водню – 35 мл/хв, повітря – 200 мл/хв, швидкість діаграмної стрічки – 240 мм/год, чутливість шкали – 10^{-9}А, об'єм проби, яку вносили – 5 мкл, тривалість аналізу – 30 хв. Ідентифікували ЖК за піками на газовій хроматограмі, порівнюючи час їх утримання з часом утримання піків стандартних чистих речовин з відомим якісним та кількісним складом. Кількісну оцінку спектра ЖК проводили методом нормування площин піків метильованих похідних ЖК та визначали їхній склад у відсотках. Похибка становила ± 10 %.

У спектрі ЖК ліпідів кардіоміоцитів та гепатоцитів було ідентифіковано 9 найінформативніших ЖК: із них міристинова $C_{14:0}$, пентодеканова $C_{15:0}$, пальмітинова $C_{16:0}$, маргаринова $C_{17:0}$, стеаринова $C_{18:0}$, що складають суму НЖК, а також олеїнова $C_{18:1}$, лінолева $C_{18:2}$, ліноленова $C_{18:3}$, арахідонова $C_{20:4}$, що складають групу ННЖК. Лінолева $C_{18:2}$, ліноленова $C_{18:3}$, арахідонова $C_{20:4}$ ЖК входять у суму поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) і визначаються як незамінні.

Отримані результати представлено у вигляді середньоарифметичного (M) і стандартної похибки (m), з урахуванням кількісної вибірки (n). Отримані результати обробляли за допомогою U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні [16]. Відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У кардіоцитах і гепатоцитах тварин ідентифіковано одні й ті самі вищі ЖК, що відрізняються між собою тільки своїм рівнем залежно від біологічного об'єкта. При порівнянні контрольних показників жирнокислотного складу ліпідів кардіоцитів і гепатоцитів виявлено різницю у співвідношенні НЖК, ННЖК та ПНЖК. Для кардіоцитів та гепатоцитів контрольної групи характерна підвищена ненасиченість (майже 60 %) за рахунок арахідонової та лінолевої ЖК. Рівень ПНЖК складає майже 50 % від усієї кількості вищих ЖК.

Проведені дослідження показали, що в щурів з експериментальною ХСН спостерігалися значні зміни жирнокислотного складу ліпідів у тканині серця (табл. 1). Встановлено статистично достовірне зменшення суми ПНЖК ліпідів кардіоцитів переважно за рахунок зниження вмісту арахідонової та лінолевої ЖК. Сума ННЖК достовірно не змінилася порівняно з контролем. Натомість рівень олеїнової кислоти був у 1,5 разу вищий, ніж у контрольній групі. Серед змін у спектрі НЖК слід відмітити зростання вмісту пальмітинової кислоти. Ці зміни не відобразилися на сумі НЖК: (44,1 ± 1,5) % проти (40,6 ± 1,6) % у контролі. Таким чином, доксорубіцин вплинув на вміст ПНЖК, що пов'язано з активацією реакцій перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у клітинах, зменшенням стійкості мембран, більш легким руйнуванням клітин за дії пошкоджуючих факторів.

Вплив доксорубіцину на спектр ЖК ліпідів гепатоцитів був не такий виражений, як у кардіоцитах щурів. Суми НЖК, ННЖК і ПНЖК ліпідів гепатоцитів тварин із 2 групи достовірно не змінилися порівняно з контролем (табл. 2).

Уведення доксорубіцину на фоні нікотинової кислоти достовірно не

Таблиця 1

Жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю та за впливу нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою, % (M ± m; n = 10)

Жирна кислота	1 група Контроль	2 група Хронічна серцева недостатність	3 група Нікотинова кислота	4 група Комплекс германію з нікотиновою кислотою
Міристинова $C_{14:0}$	2,80 ± 0,30	3,40 ± 0,50	3,20 ± 0,30	1,60 ± 0,10*/**/***
Пентодеканова $C_{15:0}$	0,90 ± 0,10	0,70 ± 0,10	1,30 ± 0,10*/**	0,60 ± 0,10*/***
Пальмітинова $C_{16:0}$	21,90 ± 1,00	25,50 ± 1,00*	24,40 ± 1,00	20,80 ± 1,00**/***
Маргаринова $C_{17:0}$	0,20 ± 0,05	0,30 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,10 ±0,05**
Стеаринова $C_{18:0}$	14,80 ± 1,00	14,20 ± 1,00	16,40 ± 1,00**	14,80 ± 1,00
Олеїнова $C_{18:1}$	9,90 ± 0,70	14,70 ± 1,00*	10,50 ± 0,80**	9,40 ± 0,60**
Лінолева $C_{18:2}$	13,80 ± 1,00	10,80 ± 0,70*	12,40 ± 1,00**	16,80 ± 1,00*/**/***
Ліноленова $C_{18:3}$	0,20 ± 0,05	0,30 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,10 ± 0,01*/**/***
Арахідонова $C_{20:4}$	35,50 ± 1,30	30,10 ± 1,10*	31,50 ± 1,00	35,80 ± 1,30**
∑ НЖК	40,60 ±0,60	44,10 ± 1,50	45,50 ± 1,30	37,9 0± 1,80**/***
∑ ННЖК	59,40 ± 1,60	55,90 ± 1,50	54,50 ± 1,30	62,10 ± 1,80***
∑ ПНЖК	49,50 ± 1,30	41,20 ± 1,30*	44,10 ± 1,20	52,70 ± 1,60**/***

*Примітка. Тут і в табл. 2: *вірогідність відносно контролю ($P < 0,05$), **вірогідність відносно 2 групи ($P < 0,05$), ***вірогідність відносно 3 групи ($P < 0,05$).*

вплинуло на суми НЖК, ННЖК і ПНЖК ліпідів міокарда в щурів. Слід зазначити підвищення вмісту насиченої пентадеканової ЖК порівняно з групою тварин з есперимента льною ХСН у 1,8 разу і в 1,4 разу порівняно з контролем. У тканині міокарда вміст стеаринової кислоти виріс у 1,2 разу, а пальмітинової кислоти статистично достовірно не відрізнявся від показників групи тварин з експериментальною ХСН (табл. 1). Зміни

Таблиця 2

Жирнокислотний склад ліпідів гепатоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю та за впливу нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою, % (M ± m; n = 10)

Жирна кислота	1 група Контроль	2 група Хронічна серцева недостатність	3 група Нікотинова кислота	4 група Комплекс германію з нікотиновою кислотою
Міристинова $C_{14:0}$	1,30 ± 0,30	1,10 ± 0,30	2,20 ± 0,30**	0,80 ±0,10*/***
Пентодеканова $C_{15:0}$	0,20 ± 0,05	0,30 ± 0,05	0,30 ± 0,05	0,60 ± 0,10*/**/***
Пальмітинова $C_{16:0}$	23,00 ± 1,00	25,40 ± 1,10	28,10 ± 1,30	23,60 ± 1,00***
Маргаринова $C_{17:0}$	0,10 ±0,05	0,40 ± 0,05*	0,30 ± 0,05*	0,50 ± 0,10*/***
Стеаринова $C_{18:0}$	14,30 ± 1,00	14,20 ± 1,00	12,60 ± 1,00	11,80 ± 1,00*/**
Олеїнова $C_{18:1}$	8,00 ± 0,50	8,40 ± 0,70	9,30 ± 0,70*	6,50 ± 0,50*/**/***
Лінолева $C_{18:2}$	8,40 ± 0,70	10,00 ± 1,00	8,40 ± 0,70	9,40 ± 0,70
Ліноленова $C_{18:3}$	0,10 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,30 ± 0,05*	0,50 ± 0,10*/**/***
Арахідонова $C_{20:4}$	44,60 ± 1,50	40,00 ± 1,30	38,80 ±1,30*	46,30 ± 1,30**/***
∑ НЖК	38,90 ± 1,80	41,40 ± 1,30	43,50 ± 1,60	37,30 ± 1,60
∑ ННЖК	61,10 ± 1,80	58,60 ± 1,30	56,50 ± 1,60	62,70 ± 1,60
∑ ПНЖК	53,10 ± 1,60	50,20 ± 1,30	47,20 ± 1,50	56,20 ± 1,50***

вмісту досліджених в роботі ННЖК носили різноспрямований характер. Уміст олеїнової кислоти зменшився в 1,4 разу, лінолевої кислоти виріс у 1,2 разу, а ліноленової та арахідонової кислот статистично достовірно не змінився порівняно з показниками тварин 2 групи (табл. 1).

У гепатоцитах тварин із 3 групи, як і у кардіоцитах, суми НЖК, ННЖК і ПНЖК достовірно не змінилися. У печінці вміст міристинової кислоти підвищувався в 2 рази: (2,2 ± 0,3) % проти (1,1 ± 0,3) % у 2 групі, тоді як у тканині міокарда вміст цієї НЖК не змінився.

МІГУ-1 за умов експериментальної ХСН у щурів справляв більш виражену дію на ЖК склад ліпідів кардіоцитів і гепатоцитів порівняно з нікотиновою кислотою. Сума НЖК у кардіоцитах достовірно зменшилася порівняно з показниками тварин 2 і 3 груп (табл. 1). Рівень у кардіоцитах і гепатоцитах міристинової та пальмітинової НЖК достовірно був нижче, ніж у тварин із 3 групи. Сума ПНЖК у кардіоміоцитах і гепатоцитах достовірно збільшилася порівняно з показниками тварин із 3 групи. У гепатоцитах статистично достовірно виріс уміст ліноленової та арахідонової ЖК порівняно з показниками тварин з 2 і 3 груп. У тканині міокарда сума НЖК становить (37,9 ± 1,8) %, ННЖК – (62,1 ± 1,8) %, ПНЖК – (52,7 ± 1,6) %, що статистично достовірно не відрізняється від показників контрольних тварин: (40,6 ± 1,6) %, (59,4 ± 1,6) % і (49,5 ± 1,3) % відповідно. У печінці статистично достовірно не відрізнялися суми НЖК – (37,3 ± 1,6) %, ННЖК – (62,7 ± 1,6) % і ПНЖК – (56,2 ± 1,8) % від контрольної групи (38,9 ± 1,8) %, (61,1 ± 1,8) % і (53,1 ± 1,6) % відповідно.

Кардіотоксичну дію антрациклінового антибіотика доксорубіцину пов'язують з інтенсифікацією реакцій ПОЛ у клітинах, наслідком якого є дефіцит ПНЖК, головним чином арахідонової ЖК. Активація ліполізу за умов оксидативного стресу лежить в основі механізму збільшення відносного рівня міристинової, пальмітинової та олеїнової кислот у кардіоцитах щурів з експериментальною ХСН. НЖК формують у мембрані локальні домени й неспецифічні канали, через які починається пасивна дифузія одно- і двовалентних катіонів за градієнтом концентрації: у клітину надлишково надходить натрій і кальцій, а із клітини виходить калій і магній. У відповідь компенсаторно зростає активність Na^+, K^+- АТФази, Ca^{2+}-АТФази та синтез в клітинах холестерину [17]. Дисбаланс катіонів призводить до набухання клітин, збільшення об'єму, високої осмолярності цитозолю і, тим самим, затримки води в клітинах, що негативно позначається на її функціональному стані. Цей процес ускладнюється порушенням синтезу ліпідних вазоактивних медіаторів внаслідок зниження синтезу арахідонової кислоти із попередника олеїнової кислоти.

Проведені дослідження показали виражений вплив МІГУ-1 на жирнокислотний спектр ліпідів у тканині міокарда та печінки щурів з експериментальною ХСН. На нашу думку, МІГУ-1 призводить до відновлення складу ЖК ліпідів кардіоміоцитів завдяки прямій антирадикальній дії, яка призводить до зниження утворення АФК, а також протекторному впливу на ензими, залежні від НАДФ-Н, що беруть участь у рециркулюванні внутрішньоклітинного пулу глутатіону [18].

Один із механізмів реалізації впливу нікотинової кислоти на склад ЖК ліпідів кардіоцитів та гепатоцитів на фоні доксорубіцин-індукованої ХСН у щурів можливо пов'язаний із Gi-білок-опосередкованим інгібуванням активності аденілатциклази, зниженням синтезу цАМФ, що в подальшому відображається на активності цАМФ-залежної протеїнкінази А, фосфорилюванні гормон-чутливої ліпази та окисненні ТГ.

Встановлений факт впливу МІГУ-1 на склад ЖК ліпідів у тканині міокарда та печінки щурів з есперименталь-ною ХСН є підставою для подальшого дослідження механізмів дії МІГУ-1 за умов доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії з можливою перспективою вивчення його як лікарського засобу з кардіопротекторною активністю.

Висновки

1. За умов експериментальної ХСН жирнокислотний склад ліпідів у тканині міокарда в щурів характеризується зменшенням ненасиченості за рахунок зниження вмісту арахідонової та лінолевої ЖК. Порушення співвідношення НЖК та ННЖК у тканині печінки щурів з доксорубіцин-індукованою ХСН не виявлено.

2. Уведення нікотинової кислоти тваринам з доксорубіциновою ХСН не впливало на процентне співвідношення НЖК і ННЖК+ПНЖК ліпідів кардіоцитів і гепатоцитів у щурів.

3. Уведення комплексу германію з нікотиновою кислотою (лабораторний шифр МІГУ-1) за умов експериментальної доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії призводить до відновлення складу ЖК ліпідів у тканині міокарда та печінки щурів.

1. Plasma Phospholipid Trans-Fatty Acids Levels, Cardiovascular Diseases, and Total Mortality: The Cardiovascular Health Study [Електроний ресурс] / Q. Wang, F. Imamura, R. Lemaitre [et al.]. – Режим доступу: http://jaha.ahajournals.org/content/3/4/e000914.full.
2. Low and very low density lipoproteins: pathogenetic and clinical significance / V. N. Titov, I. A. Vostrov, S. I. Kaba [et al.] // Klin. Med. (Mosk). – 2013. – V. 91 (1). – P. 20–7.
3. *Титов В. Н.* Конформация апоВ-100 в филогенетически и функционально разных липопротеинах низкой и очень низкой плотности. Алгоритм формирования фенотипов гиперлипопротеинемии / В. Н. Титов, В. А. Амелюшкина, Т. А. Рожкова // Клин. лаб. диагн. – 2014. – № 1. – С. 27–38.
4. Comparative effects of curcumin and an analog of curcumin on alcohol and PUFA induced oxidative stress / R. Rukkumani, K. Aruna, P. Varma [et al.] // J. Pharm. Pharm. Sci. – 2004. – V. 7 (2). – P. 274–83.
5. Niacin increases HDL biogenesis by enhancing DR4-dependent transcription of ABCA1 and lipidation of apolipoprotein A-I in HepG2 cells / L. H. Zhang, V. S. Kamanna, S. H. Ganji [et al.] // J. Lipid. Res. – 2012. – V. 53 (5). – P. 941–50.
6. *Song W. L.* Niacin, an old drug with a new twist / W. L. Song, G. A. FitzGerald // J. Lipid. Res. – 2013. – V. 54 (10). – P. 2586–2594.
7. Niacin inhibits vascular inflammation via down regulating nuclear transcription factor-kB signaling pathway [Електроний ресурс] / Y. Si, Y. Zhang, J. Zhao [et al.]. – Режим доступу: http://www.hindawi.com/journals/mi/2014/263786/.
8. Nicotinic acid- and monomethyl fumarate-induced flushing involves GRP109A expressed by keratinocytes and COX-2-dependent prostanoid formation in mice / J. Hanson, A. Gille, S. Zwykiel [et al.] // J. Clin. Invest. – 2010. – V. 120 (8). – P. 2910–2919.
9. *Кресюн В. Й.* Фармакологічна характеристика сполук германію / В. Й. Кресюн, К. Ф. Шемонаєва, А. Г. Відавська // Клініч. фармація. – 2004. – № 4. – С. 64–68.
10. Скринінг і порівняльна оцінка протиішемічної ефективності серед координаційних сполук германію при гострій цереброваскулярній недостатності / В. Д. Лук'янчук, І. О. Житіна, І. Й. Сейфулліна [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 1–2 (14–15). – С. 61–64.
11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [Електроний ресурс] – Режим доступу: http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm.
12. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447–15.
13. *Ніженковська І. В.* Біохімічні та мембранні механізми ушкодження міокарда за експериментальної серцевої недостатності та її корекції фізіологічно активними сполуками метаболітної дії: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук: *спец. 14.01.32 «Медична біохімія»* / Ніженковська Ірина Володимирівна; Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця. – К., 2009. – 11 с.
14. *Folch J.* A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / Folch J., Lees M., Sloane Stanley G. H. // J. Biol. Chem. – 1957. – V. 226. – P. 497–509.
15. *Синяк К. М.* Метод приготовления липидов крови для газохроматографического исследования / Синяк К. М., Оргель М. Я., Крук В. И. // Лаб. дело. – 1976. – № 1. – С. 37–41.
16. *Петри А.* Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин; пер. с англ. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2003. – 143 с.
17. *Sarafidis P. A.* Non-esterified fatty acids and blood pressure elevation: a mechanism for hypertension in subjects with obesity/insulin resistance? / P. A. Sarafidis, G. L. Bakris // J. Hum. Hypertens. – 2007. – V. 21 (1). – P. 12–9.
18. Metabolic coupling of glutathione between mouse and quail cardiac myocytes and its protective role against oxidative stress. / Nakamura T. Y, Yamamoto I., Kanno [et al.] // Circ. Res. – 1994. – V. 74 (5). – P. 806–816.

І. В. Ніженковська, В. П. Нароха, О. В. Кузнецова, Т. С. Брюзгіна, І. Й. Сейфулліна, О. Е. Марцинко, О. А. Чебаненко

Вплив нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів і гепатоцитів щурів з моделлю хронічної серцевої недостатності

Мета дослідження – вивчити зміни жирнокислотного складу ліпідів кардіоміоцитів і гепатоцитів у щурів з моделлю хронічної серцевої недостатності та оцінити ефективність їхньої корекції за допомогою препарату нікотинової кислоти та нової комплексної сполуки германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1).

Досліди проводили на щурах з моделлю хронічної серцевої недостатності (ХСН), що спричинена токсичною дією антрациклінового антибіотика доксорубіцину. Як протектори цитотоксичної дії доксорубіцину були використані нікотинова кислота та комплексна сполука германію з нікотиновою кислотою (лабораторний шифр МІГУ-1). Фармакологічний ефект нікотинової кислоти й нової координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) оцінювали за показниками спектра насичених і ненасичених жирних кислот (ЖК) у кардіоміоцитах і гепатоцитах за умов експериментальної ХСН. Уміст жирних кислот у тканині міокарда та печінки визначали методом газової хроматографії.

Встановлено, що за умов експериментальної ХСН жирнокислотний склад ліпідів у тканині міокарда щурів характеризувався зменшенням їхньої ненасиченості за рахунок зниження вмісту арахідонової та лінолевої жирних кислот (ЖК). Порушення співвідношення насичених та ненасичених ЖК у гепатоцитах щурів з доксорубіцин-індукованою ХСН не виявлено. Уведення на фоні доксорубіцину нікотинової кислоти не впливає на процентне співвідношення насичених ЖК і суми ненасичених та поліненасичених ЖК у тканині міокарда та печінки щурів. Уведення комплексу германію з нікотиновою кислотою МІГУ-1 за умов доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії призводить до відновлення складу ЖК у кардіоміоцитах та гепатоцитах щурів. Отримані дані свідчать про значну нормалізацію складу ЖК у кардіоміоцитах і гепатоцитах під дією нової координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1), у той час як введення нікотинової кислоти не впливало на процентне співвідношення ліпідів у тканині серця та печінки тварин з моделлю ХСН. Отримані в експерименті результати є основою для подальшого дослідження механізму дії нової координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою.

Ключові слова: нікотинова кислота, МІГУ-1, насичені та ненасичені жирні кислоти, хронічна серцева недостатність, доксорубіцин

И. В. Ниженковская, В. П. Нароха, Е. В. Кузнецова, Т. С. Брюзгина, И. И. Сейфуллина, Е. Э. Марцинко, Е. А. Чебаненко

Влияние никотиновой кислоты и комплекса германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1) на жирнокислотный состав липидов кардиомиоцитов и гепатоцитов крыс с моделью хронической сердечной недостаточности

Цель исследования – изучить изменения жирнокислотного состава липидов кардиомиоцитов и гепатоцитов у крыс с моделью хронической сердечной недостаточности и оценить эфективность их коррекции с помощью препарата никотиновой кислоты и нового комплексного соединения германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1).

Опыты проводили на крысах с моделью хронической сердечной недостаточности (ХСН), обусловленной токсическим действием антрациклинового антибиотика доксорубицина. Как протекторы цитотоксического действия доксорубицина использовали препарат никотиновой кислоты и новое комплексное соединение германия с никотиновой кислотой (лабораторний шифр МИГУ-1). Фармакологический эффект оценивали по показателям спектра насыщенных и ненасыщенных жирных кислот (ЖК) в кардиомиоцитах и гепатоцитах в условиях экспериментальной ХСН. Содержание жирных кислот в ткани миокарда и печени определяли методом газовой хроматографии.

Установлено, что в условиях моделирования ХСН жирнокислотный состав липидов ткани миокарда характеризовался уменьшением их ненасыщенности за счет снижения содержания арахидоновой и линолевой жирных кислот. Соотношение насыщенных и ненасыщенных ЖК липидов гепатоцитов у крыс с доксорубицин-индуцированной ХСН не менялось. Введение на фоне доксорубицина никотиновой кислоты не влияет на процентное соотношение насыщенных ЖК и суммы ненасыщенных ЖК и полиненасыщенных ЖК в ткани миокарда и печени крыс. Введение комплекса германия с никотиновой кислотой МИГУ-1 в условиях экспериментальной доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии приводит к восстановлению состава ЖК липидов кардиомиоцитов и гепатоцитов крыс. Полученные данные свидетельствуют о значительной нормализации состава ЖК кардиомиоцитов и гепатоцитов под действием нового координационного соединения германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1), в то время как введение никотиновой кислоты не влияло на процентное соотношение липидов в сердце и печени животных с моделью ХСН.

Полученные в эксперименте результаты являются основанием для дальнейшего исследования механизма действия нового координационного соединения германия с никотиновой кислотой.

Ключевые слова: никотиновая кислота, МИГУ-1, насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, сердечная недостаточность, доксорубицин

I. V. Nizhenkovskaya, V. P. Narokha, O. V. Kuznetsova, T. S. Bryzgina, I. I. Seifullina, E. E. Martsinko, E. A. Chebanenko

Effects of nicotinic acid and complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1) on lipid fatty acid composition of cardiomyocytes and hepatocytes in rats with experimental chronic heart failure

The purpose of this research was to study the changes in the fatty acid composition of cardiomyocytes and hepatocytes lipids on rats with experimental chronic heart failure and evaluate the effectiveness of its correction by nicotinic acid and new complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1).

Experiments were carried out on rats with a model of chronic heart failure (CHF) caused by toxic effects of anthracycline antibiotic – doxorubicin. As protectors of the cytotoxic effect of doxorubicin were used the drug nicotinic acid and a new complex compound of germanium with nicotinic acid (laboratory code MIGU-1). The pharmacological effects were evaluated in terms of the spectrum of saturated and unsaturated fatty acids (FA) in cardiomyocytes and hepatocytes of the animals with experimental heart failure. The content of fatty acids was determined by gas chromatography method.

It has been established that under conditions of experimental CHF lipid fatty acid (FA) composition is characterized by decrease in unsaturation of lipid composition of rat cardiocytes due to reduction in arachidonic and linoleic FA levels. Disorders in the ratio of saturated and unsaturated FA lipids of hepatocytes in rats with doxorubicin-induced CHF were not found. Nicotinic acid administration to experimental rats with CHF have no influence on percentage ratio of saturated FA and the amount of unsaturated and polyunsaturated FA in lipids of rat cardiomyocytes and hepatocytes. MIGU-1 injections lead to recovery of lipid FA of cardiomyocytes and hepatocytes under conditions of experimental CHF.

The data obtained are indicative of a significant normalization of FA in cardiomyocytes and hepatocytes caused by new coordination compound of germanium with nicotinic acid (MIGU-1), while nicotinic acid injections had no influence on percentage ratio of lipids in animal heart and liver. The results obtained in the experiment are the basis for further studies on the mechanism of action of a new coordination compound of germanium with nicotinic acid.

Key words: nicotinic acid, MIGU-1, saturated and unsaturated fatty acids, heart failure, doxorubicin

Надійшла: 26.01.2015 р.

Контактна особа: Нароха Віолетта Петрівна, асистент, кафедра фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 22, вул. Пушкінська, м. Київ. Тел.: + 38 0 44 234 80 11.

УДК 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6

В. А. Рибак[1], Л. М. Малоштан[1], В. В. Полторак[2], Н. С. Красова[2]

Вивчення антиоксидантних властивостей густого екстракту квасолі на моделі цукрового діабету 2 типу на тлі ожиріння в щурів

[1]Національний фармацевтичний університет, м. Харків
[2]ДУ«Інститут проблем ендокринної патології імені В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, ожиріння, антиоксидантні властивості, метформін, густий екстракт квасолі

Стійка гіперглікемія не тільки активує утворення вільних радикалів, але й знижує активність факторів антиоксидантного захисту: супероксиддисмутази (СОД), каталази, глютатіонпероксидази, НАДФН, вітамінів С і Е [1, 2].

Одним з обов'язкових компонентів комплексної терапії цукрового діабету (ЦД) та його судинних ускладнень є застосування антиоксидантної терапії, яку можна розглядати як патогенетичну, оскільки роль вільних радикалів кисню в патогенезі ЦД та його ускладнень натепер не підлягає сумніву [3].

Сучасна антиоксидантна терапія представлена різними препаратами, до складу яких входять вітаміни та мінерали, що застосовуються в лікуванні не тільки ЦД, але й інших системних захворювань. Ліквідація в пацієнтів з ЦД дефіциту вітамінів, а саме, з антиоксидантною дією, відновлення кількості мікронутрієнтів, необхідних для нормалізації метаболічних процесів в організмі, є однією з найважливіших вимог адекватної комплексної терапії ЦД, що сприяє затримці розвитку й прогресування його судинних ускладнень [4].

Тому на особливу увагу заслуговують антидіабетичні препарати, яким поряд з гіпоглікемічним ефектом притаманні антиоксидантні властивості, здатність зберігати або поліпшувати секреторну функцію β-клітин.

Мета дослідження – вивчити вплив густого екстракту квасолі (ГЕК) на показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в гомогенатах печінки та сироватці крові щурів з ЦД 2 типу на тлі ожиріння.

Матеріали та методи. Моделювання ЦД 2 типу в статевозрілих шестимісячних щурів-самців популяції Вістар (n = 21) проводили шляхом введення низької дози стрептозотоцину (30 мг/кг внутрішньоочеревинно, на цитратному буфері pH = 4,5) після 90-добового утримання тварин на комбінованій дієті, що являє собою сполучення високожирового раціону харчування (дієта з надмірним вмістом насичених жирів: білки – 20,0 %, жири – 60,0 %, вуглеводи – 20,0 % від загального калоражу) та надмірного споживання вуглеводів (вільний доступ до розчину фруктози в концентрації 200 г/л) [5, 6], з природною зміною режиму освітлення, температури та вологості повітря – за стандартами віварію. Контрольна група тварин відповідної статі та віку (n = 9) мала стандартне харчування (білки – 15,0 %, жири – 5,0 %, вуглеводи – 80,0 % від загального калоражу), вільний доступ до води та утримувалася в аналогічних умовах [7].

ГЕК вводили перорально в дозі 40 мг/кг за допомогою зонда, щоденно протягом 30 діб, починаючи з 95 доби експерименту. Як препарат порівняння використовували метформін (ВАТ «Фармак», Україна) у вигляді водної суспензії з Твіном-80 у дозі 50 мг/кг маси тіла за аналогічною схемою. Контрольна група за аналогічною схемою отримувала плацебо – 3–5 % водну емульсію Твіну-80.

Оксидативний статус експериментальних тварин характеризували спектрофотометрично за вмістом первинних

© Колектив авторів, 2015

(дієнових, трієнових та оксидієнових кон'югатів) [8] та вторинних (малонового діальдегіду) [9] продуктів ПОЛ, відновленого глутатіону в гомогенатах печінки та сироватці крові [10], а також за рівнем церулоплазміну [11] та активністю СОД [12] у сироватці крові.

Експериментальні дослідження проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.) [13].

Отримані результати досліджень проаналізовані методами варіаційної статистики з застосуванням параметричних та непараметричних критеріїв [14, 15]. Нормальність розподілу змін визначали за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Для порівняння показників, що характеризуються нормальним розподілом, використовували непарний (двобічний) t-критерій Стьюдента, а для порівняння параметрів з ненормальним розподілом – критерій Манна-Уїтні. Перевірку нульових гіпотез проводили на рівні значущості $p \leq 0,05$. За умов нормального розподілу даних їх наведено у вигляді середніх арифметичних значень зі статистичною похибкою.

Результати та їх обговорення. Відомо, що хронічна гіперглікемія призводить до розвитку оксидативного стресу завдяки підвищеній генерації активних форм кисню в мітохондріях, неферментативному глікозилюванню білків та аутоокисненню глюкози, а підвищений рівень вільних жирних кислот, що виникає внаслідок інсулінорезистентності – завдяки мітохондріальній дисфункції, β-окисненню в пероксисомах та ліпопероксидації [16–18]. Слід додати, що як гіперглікемія, так і параметри дисліпідемії (підвищені ліпопротеїни низької та дуже низької щільності, гіпертригліцеридемія) здатні викликати дисфункцію ендотеліальної NO-синтази з подальшим синтезом O_2^{*-} замість NO декількома шляхами, а саме, завдяки неферментативному глікозилюванню ферменту або гальмуванню активності диметиларгінін диметиламіногідролази, що реалізується в підвищенні рівня інгібітора NO-синтази – асиметричного диметиларгініну [19, 20]. У свою чергу, хронічне підвищення рівня вільних радикалів призводить до індукції каскаду так званого стрес-чутливого сигнального шляху, робота якого, за останніми даними, залучена до патогенезу як ЦД 2 типу, так і його ускладнень [21, 22].

Показником посилення оксидативного стресу є, перш за все, підвищений рівень продуктів ПОЛ. Результати досліджень показників оксидативного стресу показали, що моделювання експериментального ЦД 2 типу на тлі ожиріння в групі тварин «Діабет + плацебо» супроводжувалося достовірним підвищенням концентрації первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації як у гомогенатах печінки, так і в сироватці крові відносно показників групи «Інтактний контроль» (табл. 1, табл. 2).

Тривале застосування в лікуванні тварин ГЕК та метформіну сприяло достовірному зниженню вмісту в гомогенатах печінки дієнових кон'югатів у 1,8 разу і 1,7 разу, умісту трієнових і оксидієнових кон'югатів в 2,1 разу й 2,0 разу, а вмісту малонового діальдегіду в 1,5 разу і 1,7 разу відповідно порівняно з групою тварин «Діабет + плацебо», але не до рівня показників групи тварин «Інтактний контроль» (табл. 1).

Під дією ГЕК і метформіну спостерігали достовірне зниження вмісту в сироватці крові тварин дієнових кон'югатів у 2,4 і 2,0 разу, трієнових кон'югатів в 1,7 і 1,5 разу, оксидієнових кон'югатів у 1,7 і 1,4 разу, малонового діальдегіду в 3,0 і 2,8 разу порівняно з групою тварин «Діабет + плацебо», але не досягали рівнів групи тварин «Інтактний контроль». ГЕК проявив більш виражений вплив, ніж метформін на зменшення вмісту як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ у сироватці крові тварин (табл. 2). Крім того, під впливом ГЕК відбувалося суттєве зниження вмісту малонового діальдегіду в сироватці крові, для якого відзначено вагомий негативний внесок у процеси неферментативного глікозилювання на тлі хронічної гіперглікемії [23].

Таблиця 1

Показники перекисного окиснення ліпідів у гомогенатах печінки щурів з цукровим діабетом 2 типу на тлі ожиріння та за умов впливу густого екстракту квасолі ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 6–9

Група тварин	Дієнові кон'югати, мкмоль/г	Трієнові кон'югати, мкмоль/г	Оксидієнові кон'югати, мкмоль/г	Малоновий діальдегід, мкмоль/г
Інтактний контроль	14,12 ± 1,46	21,55 ± 2,45	15,41 ± 1,42	72,33 ± 7,31
Діабет + плацебо	35,21 ± 3,24 $p_1 < 0,001$	58,69 ± 6,87 $p_1 < 0,001$	41,96 ± 4,70 $p_1 < 0,001$	166,97 ± 11,43 $p_1 < 0,001$
Діабет + метформін	20,98 ± 2,02 $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$	29,51 ± 1,37 $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$	21,19 ± 0,91 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	99,07 ± 12,33 $p_2 < 0,001$
Діабет + густий екстракт квасолі	19,98 ± 1,98 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	27,78 ± 2,92 $p_2 < 0,001$	20,04 ± 1,91 $p_2 < 0,001$	108,50 ± 15,11 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,002$

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: p_1 – значущість змін порівняно з групою «Інтактний контроль», p_2 – значущість змін порівняно з групою «Діабет + плацебо».

Таблиця 2

Показники перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові щурів з цукровим діабетом 2 типу на тлі ожиріння та за умов впливу густого екстракту квасолі ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 6–9

Група тварин	Дієнові кон'югати, ммоль/л	Трієнові кон'югати, ммоль/л	Оксидієнові кон'югати, ммоль/л	Малоновий діальдегід, ммоль/л
Інтактний контроль	0,18 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,90 ± 0,08
Діабет + плацебо	0,57 ± 0,04 $p_1 < 0,001$	0,61 ± 0,06 $p_1 < 0,001$	0,38 ± 0,04 $p_1 < 0,001$	3,34 ± 0,27 $p_1 < 0,001$
Діабет + метформін	0,28 ± 0,02 $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$	0,42 ± 0,04 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	0,28 ± 0,02 $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$	1,18 ± 0,13 $p_2 < 0,001$
Діабет + густий екстракт квасолі	0,24 ± 0,03 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	0,36 ± 0,04 $p_2 < 0,001$	0,23 ± 0,02 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	1,11 ± 0,07 $p_2 < 0,002$

Таким чином, ГЕК та метформін лише частково гальмували ПОЛ у щурів з ЦД 2 типу на тлі ожиріння, що ймовірно пов'язано як з безпосередніми антиоксидантними властивостями, так і з поліпшенням глікемічного контролю та відновленням чутливості до інсуліну.

У групі щурів «Діабет + плацебо» за умов значної та довготривалої гіперглікемії та суттєвої активації ліпідної пероксидації було визначено порушення в роботі компонентів ферментативної та глутатіон-залежної ланки антиоксидантної системи захисту. Спостерігали достовірне підвищення вмісту церулоплазміну (комплексне утворення іонів міді з білком, що здатний проявляти СОД-подібну ферментативну активність) у сироватці крові за умов зниженої активності СОД та зменшення вмісту провідного низькомолекулярного антиоксиданту – відновленого глутатіону як у гомогенатах печінки, так і в сироватці крові (табл. 3). За цих умов зниження активності СОД можна пояснити порушеннями активації процесів неферментативного глікозилювання внаслідок хронічної гіперглікемії та оксидативного стресу в тварин з експериментальним ЦД 2 типу на тлі ожиріння [24].

Як видно з даних таблиці 3, тривале застосування в лікуванні щурів із ЦД 2

Таблиця 3

Показники стану антиоксидантного захисту у гомогенаті печінки та сироватці крові щурів з цукровим діабетом 2 типу на тлі ожиріння та за умов впливу густого екстракту квасолі ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n = 6–9

Група тварин	Відновлений глутатіон у гомогенаті печінки, мкмоль/г	Відновлений глутатіон у сироватці крові, мкмоль/л	Церулоплазмін у сироватці крові, мг/л	Активність СОД у сироватці крові, Од/мл
Інтактний контроль	5,23 ± 0,29	0,43 ± 0,02	250,63 ± 12,23	32,99 ± 2,08
Діабет + плацебо	1,45 ± 0,15 $p_1 < 0,001$	0,17 ± 0,03 $p_1 < 0,001$	325,99 ± 18,18 $p_1 < 0,001$	17,22 ± 2,89 $p_1 < 0,001$
Діабет + метформін	4,17 ± 0,39 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	0,28 ± 0,04 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	271,16 ± 11,50 $p_2 < 0,05$	25,46 ± 2,06 $p_2 < 0,05$
Діабет + густий екстракт квасолі	3,90 ± 0,35 $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$	0,34 ±0 ,02 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	241,83 ± 9,98 $p_2 < 0,002$	27,21 ± 3,40 $p_2 < 0,05$

типу на тлі ожиріння ГЕК та метформіну призводило до достовірного збільшення вмісту відновленого глутатіону як у гомогенатах печінки – у 2,7 і 2,2 разу, так і в сироватці крові – у 2,0 і 1,6 разу порівняно з показниками групи «Діабет + плацебо», але вони ще не досягали значень групи «Інтактний контроль».

У той самий час досліджені параметри ферментативного антиоксидантного захисту в групах тварин «Діабет + метформін» і «Діабет + ГЕК» зазнавали відновлення. Під впливом ГЕК та метформіну відбувалося зниження вмісту церулоплазміну – у 1,3 і 1,2 разу та підвищення активності СОД – у 1,6 і 1,5 разу в сироватці крові щурів порівняно з показниками групи «Діабет + плацебо».

Результати досліджень показали, що ГЕК сприяв відновленню показників антиоксидантного захисту в тварин з ЦД 2 типу на тлі ожиріння й не поступався дії препарату порівняння – метформіну.

Висновки

На моделі ЦД 2 типу на тлі ожиріння в щурів ГЕК проявив антиоксидантний ефект і як наслідок – призвів до зниження концентрації первинних і вторинних продуктів ПОЛ, збільшення активності антиоксидантної системи та не поступався дії препарату порівняння – метформіну.

Поєднання антиоксидантних та антигіперглікемічних властивостей ГЕК з нормалізуючим впливом препарату на початкові реакції неферментативного глюкозилювання свідчить про перспективність його застосування при ЦД 2 типу на тлі ожиріння.

1. *Дедов И. И.* Сахарный диабет / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : Универсум Паблишинг, 2003. – 455 с.
2. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes / D. Pitocco, F. Zaccardi, E. Di Stasio // Rev. Diabet. Study – 2010. – V. 7, № 1. – P. 15–25.
3. Role of oxidative stress in development of cardiovascular complications in diabetes mellitus / M. A. Haidara, H. Z. Yassin, M. Rateb [et al.] // Curr. Vasc. Pharmacol. – 2006. – V. 4, № 3. – P. 215–227.
4. Standards of medical care in diabetes – 2013 / American Diabetes Association // Diabetes Care. – 2013. – V. 36, Suppl. 1. – P. S11–S66.
5. *Jurgoński A.* A high-fat diet differentially affects the gut metabolism and blood lipids of rats depending on the type of dietary fat and carbohydrate / A. Jurgoński, J. Juśkiewicz, Z. Zduńczyk // Nutrients. – 2014. – V. 6, № 2. – P. 616–626.
6. Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes / D. C. Damasceno, A. O. Netto, I. L. Iessi [et al.] // BioMed. Research International. – 2014. – V. 2014. – Article ID 819065, 11 pages.
7. Лабораторные животные / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [и др.]. – К. : Вища школа, 1983. – 383 с.
8. *Плацер З.* Определение диеновых конъюгатов в биологических объектах / З. Плацер, М. Видлакова, Л. Купила // Чехосл. мед. обзор. – 1970. – Т. 16, № 1. – С. 30–34.

9. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Стальная И. Д., Гаришвили Г. Т. // Современные методы биохимии. Под ред. В. А. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 43–44.
10. *Beutler E.* Improved method for the determination of blood glutathion / E. Beutler, O. Duron, B. Kelly // Lab. Clin. Med. – 1963. – V. 63, № 5. – P. 882–888.
11. *Чевари С.* Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штренгер // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 913.
12. *Колб В. Г.* Справочник по клинической химии: учебник / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982.– С. 241–242.
13. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
14. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика / С. Гланц; Пер. с англ. – М. : Практика, 1999. – 459 с.
15. *Атраментова Л.* Статистичні методи в біології: підручник / Л. Атраментова, О. Утєвська. – Х. : ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2007. – 288 с.
16. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes / J. L. Evans, I. D. Goldfine, B. A. Maddux, G. M. Grodsky // Endocrine Rev. – 2002. – V. 23, № 5. – P. 599–622.
17. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies / L. Rochette, M. Zeller, Y. Cottin, C. Vergely // Biochim Biophys Acta. – 2014. – V. 1840, № 9. – P. 2709–2729.
18. *Yorek M. A.* The role of oxidative stress in diabetic vascular and neural disease / M. A. Yorek // Free Radic. Res. – 2003. – V. 37, № 5. – P. 471–480.
19. *Endemann D. H.* Nitric oxide, oxidative excess, and vascular complications of diabetes mellitus / D. H. Endemann, E. L. Schiffrin // Curr. Hypertens. Rep. – 2004. – V. 6, № 2. – P. 85–89.
20. *Giacco F.* Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // Circ Res. – 2010. – V. 107, № 9. – P. 1058 –70.
21. Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic beta-cell dysfunction and insulin resistance / H. Kaneto, Y. Nakatani, D. Kawamori [et al.] // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2006. – V. 38, № 5–6. – P. 782–793.
22. Involvement of c-Jun n-terminal kinase in oxidative stress-mediated suppression of insulin gene expression / H. Kaneto, G. Xu, N. Fujii [et al.] // J. Biol. Chem. – 2001. – V. 277, № 33. – P. 30010–30018.
23. *Slatter D. A.* The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus / D. A. Slatter, C. H. Bolton, A. J. Bailey // Diabetologia. – 2000. – V. 43, № 5. – P. 550–557.
24. *Stocker R.* Role of oxidative modifications in atherosclerosis / R. Stocker, J. F. Keaney Jr. // Physiol. Rev. – 2004. – V. 84. – P. 1381–1478.

В. А. Рибак, Л. М. Малоштан, В. В. Полторак, Н. С. Красова

Вивчення антиоксидантних властивостей густого екстракту квасолі на моделі цукрового діабету 2 типу на тлі ожиріння у щурів

Стійка гіперглікемія не тільки активує утворення вільних радикалів, але й знижує активність факторів антиоксидантного захисту. Тому на особливу увагу заслуговують антидіабетичні препарати, яким поряд з гіпоглікемічним ефектом притаманні антиоксидантні властивості, здатність зберігати або поліпшувати секреторну функцію β-клітин.

Вивчено вплив густого екстракту квасолі (ГЕК) на показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в гомогенатах печінки та сироватці крові щурів з ЦД 2 типу на тлі ожиріння.

Оксидативний статус експериментальних тварин характеризували спектрофотометрично за вмістом первинних (дієнових, трієнових та оксидієнових кон'югатів) та вторинних (малонового діальдегіду) продуктів ПОЛ, відновленого глутатіону у гомогенатах печінки та сироватці крові, а також за рівнем церулоплазміну та активністю СОД у сироватці крові.

Тривале застосування в лікуванні тварин ГЕК у дозі 40 мг/кг і метформіну в дозі 50 мг/кг сприяло достовірному зниженню вмісту дієнових, трієнових і оксидієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, збільшенню вмісту відновленого глутатіону як у гомогенатах печінки, так і в сироватці крові; зниженню вмісту церулоплазміну та підвищенню активності СОД у сироватці крові порівняно з групою тварин «Діабет + плацебо», але не до рівня показників групи тварин «Інтактний контроль». ГЕК та метформін лише частково гальмували ПОЛ, що ймовірно пов'язано як з безпосередніми антиоксидантними властивостями, так і з поліпшенням глікемічного контролю та відновленням чутливості до інсуліну.

На моделі ЦД 2 типу на тлі ожиріння в щурів ГЕК проявив антиоксидантний ефект і як наслідок – призвів до зниження концентрації первинних і вторинних продуктів ПОЛ, збільшення активності антиоксидантної системи та не поступався дії препарату порівняння – метформіну. Поєднання антиоксидантних властивостей ГЕК з нормалізуючим впливом препарату на початкові реакції неферментативного глюкозилювання та антигіперглікемічними властивостями свідчить про перспективність його застосування при ЦД 2 типу на тлі ожиріння.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, ожиріння, антиоксидантні властивості, метформін, густий екстракт квасолі

В. А. Рыбак, Л. Н. Малоштан, В. В. Полторак, Н. С. Красова

Изучение антиоксидантных свойств густого экстракта фасоли на модели сахарного диабета 2 типа на фоне ожирения у крыс

Стойкая гипергликемия не только активирует образование свободных радикалов, но и снижает активность факторов антиоксидантной защиты. Поэтому особенного внимания заслуживают антидиабетические препараты, которым наряду с гипогликемическим эффектом присущи антиоксидантные свойства, способность сохранять или улучшать секреторную функцию β-клеток.

Изучено влияние густого экстракта фасоли (ГЭФ) на показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты в гомогенатах печени и сыворотке крови крыс с сахарным диабетом (СД) 2 типа на фоне ожирения.

Оксидативный статус экспериментальных животных характеризировали спектрофотометрически по содержанию первичных (диеновых, триеновых и оксидиеновых коньюгатов) и вторичных (малонового диальдегида) продуктов ПОЛ, восстановленного глутатиона в гомогенатах печени и сыворотке крови, а также по уровню церулоплазмина и активности СОД в сыворотке крови.

Длительное применение в лечении животных ГЭФ в дозе 40 мг/кг и метформина в дозе 50 мг/кг способствовало достоверному снижению содержания диеновых, триеновых и оксидиеновых коньюгатов, малонового диальдегида, увеличению содержания восстановленного глутатиона как в гомогенатах печени, так и в сыворотке крови; снижению содержания церулоплазмина и повышению активности СОД в сыворотке крови по сравнению с группой животных «Диабет + плацебо», но не до уровня показателей группы животных «Интактный контроль». ГЭФ и метформин только частично тормозили ПОЛ, что вероятно связано как с непосредственными антиоксидантными свойствами, так и с улучшением гликемического контроля и восстановлением чувствительности к инсулину.

На модели СД 2 типа на фоне ожирения у крыс ГЭФ проявил антиоксидантный эффект и как следствие – вызвал снижение концентрации первичных и вторичных продуктов ПОЛ, увеличение активности антиоксидантной системы и не уступал действию препарата сравнения – метформина. Сочетание антиоксидантных свойств ГЭФ с нормализирующим влиянием препарата на начальные реакции неферментативного глюкозилирования и антигипергликемическими свойствами свидетельствует о перспективности его применения при СД 2 типа на фоне ожирения.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, ожирение, антиоксидантные свойства, метформин, густой экстракт фасоли

V. A. Rybak, L. M. Maloshtan, V. V. Poltorak, N. S. Krasova

The study of antioxidant properties of the thick beans extract on the model of type 2 diabetes against the background of obesity in rats

A persistent hyperglycemia not only activates the formation of free radicals, but also reduces the activity of antioxidant protection factors. Therefore, the special attention should be given to the anti-diabetic drugs, which along with the hypoglycemic effect possess some antioxidant properties and the ability to maintain or improve the secretory function of β-cells.

There has been studied the effect of a thick bean extract (TBE) on lipid peroxidation (LPO) and antioxidant protection in liver homogenates and blood serum of rats with type 2 diabetes mellitus (DM) and obesity.

The oxidative status of the experimental animals has been spectrophotometrically characterized by the content of the primary (diene, triene and oxidiene conjugates) and secondary (malondialdehyde) LPO products, reduced glutathione in liver homogenates and blood serum, as well as the level of ceruloplasmin and SOD activity in serum.

A prolonged use in the treatment of the animals of TBE at the dose of 40 mg/kg and metformin at the dose of 50 mg/kg led to the significant decrease in content of the diene, triene, and oxidien conjugates, malondialdehyde, increase the levels of reduced glutathione in the liver homogenates and blood serum; reduction of ceruloplasmin content and increase SOD in serum as compared to the group of the animals «Diabetes + placebo», but not to the indicator levels of the «Intact control» group. TBE and metformin have only partially inhibited the LPO, which is probably due to both the direct antioxidant properties and improvement of glycemic control combined with restoration of insulin sensitivity.

On the model of type 2 diabetes with obesity the TBE demonstrated an antioxidant effect and as a consequence – reduced the concentration of primary and secondary products of lipid peroxidation, increased the activity of the antioxidant system. This effect of the drug has not been worse than action of reference drug metformin. Combining the antioxidant properties of the TBE with a normalizing effect of the drug on the initial reaction and enzymatic glucosylation, antihyperglycemic properties indicates the prospect of its administration in type 2 diabetes against the background of obesity.

Key words: type 2 diabetes mellitus, obesity, antioxidant properties, metformin, thick bean extract

Надійшла: 17.11.2014 р.

Контактна особа: Рибак Вікторія Анатоліївна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра біології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61002.
Тел.: + 38 0 57 706 23 42. Електронна пошта: vitarybak@mail.ru

УДК 543.42.062:547.458:577.127.4:615:01-2:582.717.7

А. В. Гудзенко

Розробка ВЕРХ методики визначення ізорамнетин-3-рутинозиду в лікарських засобах квіток нагідок лікарських (*Calendula officinalis L.*)

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

Ключові слова: квітки нагідок лікарських, ізорамнетин-3-рутинозид, багатокомпонентні рослинні суміші, стандартизація, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

Протягом останніх років у світовій фітотерапії спостерігається тенденція до поширеного використання багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження (БЛЗРП). Зокрема, на фармацевтичному ринку України зареєстровано та добре зарекомендували себе понад 200 полікомпонентних фітозасобів [1, 2]. Але існуючі сьогодні методики аналізу вищезазначених фітозасобів здебільшого не відповідають сучасним фармакопейним вимогам, вони не є специфічними та не дають можливості ідентифікації та визначення кількісного вмісту окремих компонентів суміші.

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

Одними з найпоширеніших складових, що застосовуються для виготовлення БЛЗРП, є квітки нагідок лікарських, що успішно використовуються в медичній практиці як у вигляді монопрепаратів, так і у вигляді складових частин БЛЗРП [1, 2, 5, 6].

Фармакологічна активність квіток нагідок лікарських обумовлена наявністю в їхньому складі комплексу біологічно активних речовин, зокрема, флавоноїдів [5–9]. Основним представником цього класу сполук у квітках нагідок лікарських є ізорамнетин-3-рутинозид, який за даними літератури має широкий спектр біологічної активності [5–9]. Тому вважали за доцільне вивчити можливість використання ізорамнетин-3-рутинозиду як маркера нагідок лікарських при стандартизації рослинних сумішей.

Мета дослідження – розробка підходів до якісної та кількісної стандартизації квіток нагідок лікарських у рослинних сумішах за вмістом ізорамнетин-3-рутинозиду.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були квітки нагідок у пачках по 50 г (виробники ЗАТ «Ліктрави» (серії: 120508, 30310, 80310), КП «Фармацевтична фабрика» (серія 20709), квітки нагідок у пачках по 25 г (виробник ЗАТ ФФ «Віола», серія 020210), квітки нагідок, фільтр-пакети по 1,5 г (виробник ЗАТ «Ліктрави», серія 20210), суміш з вмістом квіток нагідок (квіток нагідок лікарських – 1,00 г, плодів шипшини – 1,00 г, плодів та квіток глоду колючого – 1,00 г, шишок хмелю – 1,00 г, листя м'яти перцевої – 1,00 г, листя подорожника великого – 1,00 г, квіток ромашки аптечної – 1,00 г) та аналогічна суміш без вмісту нагідок лікарських.

Екстракцію біологічно активних речовин у досліджуваних об'єктах проводили наступним чином:

1,00 г (точна наважка) подрібненої сировини квіток нагідок лікарських або 5,00 г (точна наважка) рослинної суміші або полікомпонентного фітопрепарату вносили в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додавали 50 мл 50 % етилового спирту та

© А. В. Гудзенко, 2015

витримували на киплячому водяному нагрівнику протягом 45 хв. Після цього екстракт охолоджували до кімнатної температури та фільтрували крізь фільтр «червона стрічка» у мірну колбу об'ємом 100 мл. Екстракцію проводили ще один раз та доводили об'єм витягів до 100 мл 50 % етиловим спиртом. До 5,00 мл отриманого розчину додавали таку кількість води, щоб концентрація спирту становила 10 %, та пропускали отриманий зразок крізь попередньо активований (метанол 5 мл) та промитий 10 мл води патрон для твердофазної екстракції «Superclean lc-18 SPE Tubes 2 ml» виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивали 10 мл 10 % етилового спирту. Пробу із патрона вимивали 10 мл метилового спирту. Отриманий аналіт концентрували випаровуванням до об'єму 5,00 мл та фільтрували крізь фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

Для визначення ізорамнетин-3-рутинозиду застосовували метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Хроматографічне вивчення досліджуваних екстрактів та розчинів стандартних зразків проводили на хроматографі Shimadzu ser. 20, обладнаному діодно-матричним детектором, за таких умов: колонка С18 Symmetry, розміром 250 мм × 4,6 мм, розмір частинок – 5 мкм; температура колонки – 35 °С; довжина хвилі детектування – 350 нм; об'єм проби, що вводиться – 5 мкл; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл / хв; рухома фаза: 0–25 хв: градієнтне елюювання від 95,0 % до 92,5 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та від 5,0 % до 7,5 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 25–45 хв: градієнтне елюювання від 92,5 % до 85,0 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та від 7,5 % до 15,0 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 45–50 хв: градієнтне елюювання від 85 % до 0 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та від 15 % до 100 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 50–55 хв: ізократичне елюювання 100 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 55,01–70,00 хв: ізократичне елюювання від 95 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (10 : 90) (об/об) та від 5 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об).

Уміст ізорамнетин-3-рутинозиду в досліджуваній суміші (у %) обчислювали за наступною формулою:

$$X = \frac{S_{пр} \times C_{ст} \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{S_{ст} \cdot m_{пр} \cdot (100 - W)};$$

де $S_{пр}$ – площина піка ізорамнетин-3-рутинозиду на хроматограмі багатокомпонентної суміші;

$S_{ст}$ – площина піка ізорамнетин-3-рутинозиду на хроматограмі розчину порівняння ізорамнетин-3-рутинозиду;

$C_{ст}$ – концентрація ізорамнетин-3-рутинозиду в розчині порівняння ізорамнетин-3-рутинозиду, г/мл;

$m_{пр}$ – наважка досліджуваної рослинної суміші, г;

W – втрата маси при висушуванні в досліджуваній рослинній суміші.

При виконанні роботи використовували реактиви: ацетонітрил для градієнтного хроматографування («FLUKA», Німеччина); ортофосфорну кислоту («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 ізорамнетин-3-рутинозиду в рослинній сировині квіток нагідок лікарських.

На рисунку представлені хроматограми розчину порівняння ізорамнетин-3-рутинозиду (рисунок, А) та екстракту квіток нагідок лікарських (рисунок, Б).

Як можна бачити, час виходу піка ізорамнетин-3-рутинозиду в зазначених вище умовах складає близько 32,2 хв. Даний пік присутній як на хроматограмі розчину порівняння ізорамнетин-3-

рутинозиду, так і на хроматограмі екстракту квіток нагідок лікарських.

За розробленою методикою були проаналізовані препарати «Квітки нагідок лікарських» різних вітчизняних виробників.

Уміст ізорамнетин-3-рутинозиду в квітках нагідок лікарських різних вітчизняних виробників надано в таблиці 1.

Згідно з наведеними даними (табл. 1), у всіх пробах був ідентифікований та кількісно визначений флавоноїд ізорамнетин-3-рутинозид. Уміст зазначеного флавоноїду в досліджуваній сировині складає від (0,2385 ± 0,0121) % до (0,3540±0,0167) % у перерахунку на суху сировину.

За тих самих умов був проведений аналіз рослинної сировини, що найчастіше входить до складу багатокомпонентних препаратів квіток нагідок лікарських, а саме: плодів шипшини, плодів та квіток глоду колючого, шишок хмелю, листя м'яти перцевої, листя подорожника великого та квіток ромашки аптечної.

Результати проведених досліджень дозволяють зробити висновок, що за наявністю та кількісним вмістом ізорамнетин-3-рутинозиду можна стандартизувати квітки нагідок у сумішах з усією наведеною вище сировиною.

Для підтвердження можливості стандартизації квіток нагідок лікарських за наявністю та вмістом ізорамнетин-3-рутинозиду в присутності зазначеної вище сировини була виготовлена суміш наступного складу: квіток нагідок лікарських – 1 г, пло-

Таблиця 1

Уміст ізорамнетин-3-рутинозиду в досліджуваних препаратах квіток нагідок лікарських

Препарат квіток нагідок лікарських	Виробник, № серії	Уміст ізорамнетин-3-рутинозиду в перерахунку на висушену сировину, % (n = 6)
Квітки нагідок у пачках по 25 г	ЗАТ ФФ «Віола», серія 020210	0,2688 ± 0,0123
Квітки нагідок у пачках по 50 г	КП «Фармфацевтична фабрика», серія 20709	0,3540 ± 0,0167
Квітки нагідок у пачках по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 120508	0,3089 ± 0,0142
Квітки нагідок у пачках по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 30310	0,2385 ± 0,0121
Квітки нагідок у пачках по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 80310	0,3061 ± 0,0163
Квітки нагідок у пачках по 50 г	ВАТ «Лубнифарм», серія 80410	0,3003 ± 0,0132
Квітки нагідок, фільтр-пакети по 1,5 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 20210	0,2951 ± 0,0158

Таблиця 2

Метрологічні характеристики кількісного визначення ізорамнетин-3-рутинозиду в рослинній суміші, що містить квітки нагідок лікарських

Знайдено ізорамнетин-3-рутинозиду, %	$\bar{x}$	S	P	t (P, f)	$\Delta X_{ср}$	ε%
0,0410 0,0439 0,0434 0,0430 0,0419	0,04264	0,00117	0,95	2,78	0,00146	3,43

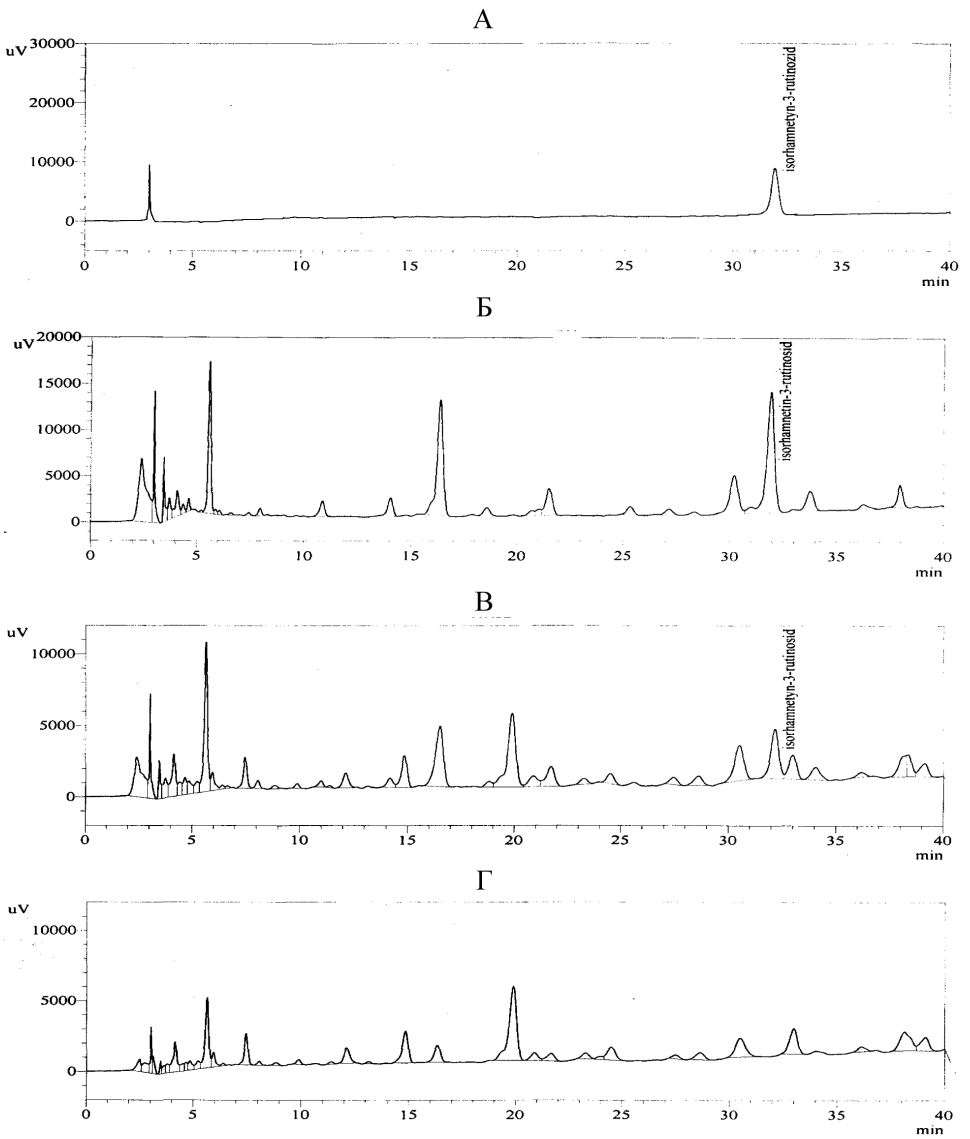


Рисунок. ВЕРХ-хроматограми досліджуваних розчинів: А – розчин порівняння ізорамнетин-3-рутинозиду; Б – екстракту квіток нагідок лікарських; В – екстракту модельної суміші з вмістом квіток нагідок; Г – екстракту модельної суміші без вмісту квіток нагідок лікарських

дів шипшини – 1 г, плодів та квіток глоду колючого – 1 г, шишок хмелю – 1 г, листя м'яти перцевої – 1 г, листя подорожника великого – 1 г, квіток ромашки аптечної – 1 г. Також була виготовлена суміш, аналогічна за складом попередній, але без додавання квіток нагідок.

Зазначені суміші були проаналізовані за розробленою хроматографічною методикою. Хроматограми розчину порівняння ізорамнетин-3-рутинозиду, екстрактів зазначених сумішей та екстракту квіток нагідок лікарських надані на рисунку.

Як на хроматограмі екстракту квіток нагідок лікарських (рисунок, Б) так і на хроматограмі рослинної суміші з вмістом нагідок (рисунок, В) присутній пік ізорамнетин-3-рутинозиду, тоді саме як на хроматограмі рослинної суміші без вмісту нагідок лікарських (рисунок, Г) даний пік відсутній.

Таким чином, виходячи з отриманих даних, у рослинних сумішах, до складу

яких входять квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, плоди та квітки глоду колючого, шишки хмелю, листя м'яти перцевої, листя подорожника великого та квітки ромашки аптечної, квітки нагідок можна стандартизувати за наявністю та вмістом ізорамнетин-3-рутинозиду.

Метрологічні характеристики кількісного визначення ізорамнетин-3-рутинозиду в рослинній суміші з вмістом нагідок лікарських, наведено в таблиці 2. Відносна похибка методу, розрахована методом математичної статистики для 5 паралельних визначень ізорамнетин-3-рутинозиду в вищезазначеній суміші з надійністю P = 0,95, становить 3,43 %.

Висновки

1. З використанням методу ВЕРХ розроблена методика визначення ізорамнетин-3-рутинозиду в моно- та багатокомпонентних фітопрепаратах квіток нагідок лікарських.

2. За розробленою методикою були проаналізовані препарати «Квітки нагідок лікарських» різних вітчизняних виробників. У всіх пробах було ідентифіковано та кількісно визначено флавоноїд ізорамнетин-3-рутинозид. Уміст зазначеного флавоноїду в досліджуваній сировині складає від (0,2385 ± 0,0121) % до (0,3540 ± 0,0167) % у перерахунку на суху сировину.

3. Встановлено, що за наявністю та вмістом ізорамнетин-3-рутинозиду квітки нагідок лікарських можна стандартизувати в сумішах з такою рослинною сировиною: плодами шипшини, плодами та квітками глоду колючого, шишками хмелю, листям м'яти перцевої, листям подорожника великого та квітками ромашки аптечної.

1. Довідник лікарських засобів, зареєстрованих в Україні станом на 01.01.2014 // www.Pharma-center.kiev.ua.
2. Справочник «Компендиум-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. Календула лекарственная (*Calendula officinalis L.*). Аналитический обзор Ч. 1 / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик, С. М. Калугина [и др.] // Провизор. – 2001. – № 4. – С. 29–31.
6. Календула лекарственная (*Calendula officinalis L.*). Аналитический обзор Ч. 2 / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик, С. М. Калугина [и др.] // Провизор. – 2001. – № 5. – С. 29–31.
7. *Куркин В. А.* Флавоноиды из цветков календулы./ В. А. Куркин, О. В. Шарова // Химия природных соединений. – 2007. – № 2. – С. 179–180.
8. Antiinflammatory, anti-tumor-promoting and cytotoxic activies of constituents of Marigold (Calendula officinalis) flowers / M. Ukiya, T. Akihisa, K. Yasukava [et al.] // J. Nat. Prod. – 2006. – V. 69. – P. 1692–1696.
9. *Vidal-Ollivier E*. Flavonol glycosides from Calendula officinalis flowers / E. Vidal-Ollivier // Planta Med. – 1989. – V. 55. – P. 73.
10. *Лапач С. Н*. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. – К. : «Морион», 2000. – 320 с.

А. В. Гудзенко

Розробка ВЕРХ методики визначення ізорамнетин-3-рутинозиду в лікарських засобах квіток нагідок лікарських (*Calendula officinalis L.*)

Визначено маркер, з використанням якого можлива якісна та кількісна стандартизація квіток нагідок лікарських у рослинних сумішах. Як маркер нагідок лікарських може бути використано ізорамнетин-3-рутинозид. З використанням методу ВЕРХ розроблено методику аналізу ізорамнетин-3-рутинозиду в моно- і багатокомпонентних лікарських засобах рослинного походження, до складу яких входять квітки нагідок лікарських. Методика включає попереднє очищення проб від баластних речовин за допомогою твердофазної екстракції з подальшим хроматографуванням зразків на рідинному хроматографі з діодно-матричним детектором. Дослідження проводили з використанням хроматографічної колонки C18 Symmetry (250 × 4.6 мм, діаметр часток 5 мкм), детектування за довжини хвилі 350 нм.

З використанням розробленої методики проведено аналіз моно- і полікомпонентних фітопрепаратів, до складу яких входять квітки нагідок лікарських. У результаті проведеного аналізу

показано, що вміст ізорамнетин-3-рутинозиду в сировині рослини складає від (0,2385 ± 0,0121) % до (0,3540 ± 0,0167) % у перерахунку на суху сировину. Доведено, що за наявністю та вмістом ізорамнетин-3-рутинозиду квітки нагідок лікарських можна стандартизувати в сумішах з наступною рослинною сировиною: плодами шипшини, плодами та квітками глоду, шишками хмелю, листям м'яти перцевої, листям подорожника великого та квітками ромашки аптечної.

Ключові слова: квітки нагідок лікарських, ізорамнетин-3-рутинозид, багатокомпонентні рослинні суміші, стандартизація, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

А. В. Гудзенко

Разработка ВЭЖХ методики определения изорамнетин-3-рутинозида в лекарственных средствах цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*)

Определен маркер, по наличию и количественному содержанию которого возможна качественная и количественная стандартизация цветков календулы лекарственной в растительных смесях. В качестве маркера календулы лекарственной может использоваться изорамнетин-3-рутинозид. С использованием ВЭЖХ разработана методика анализа изорамнетин-3-рутинозида в моно- и многокомпонентных лекарственных средствах растительного происхождения, в состав которых входят цветки календулы лекарственной. Методика включает предварительную очистку проб от балластных веществ с помощью твердофазной экстракции с последующим хроматографированием образцов на жидкостном хроматографе с диодно-матричным детектором. Исследования проводили с использованием хроматографической колонки C18 Symmetry (250 × 4,6 мм, диаметр частиц 5 мкм), детектирование при 350 нм.

С использованием разработанной методики произведен анализ моно- и поликомпонентных фитопрепаратов, в состав которых входят цветки календулы лекарственной. В результате проведенного анализа показано, что содержание изорамнетин-3-рутинозида в сырье растения составляет от (0,2385 ± 0,0121) % до (0,3540 ± 0,0167) % в пересчете на сухое сырье. Доказано, что по наличию и содержанию изорамнетин-3-рутинозида цветки календулы лекарственной можно стандартизировать в смесях со следующим растительным сырьем: плодами шиповника, плодами и цветками боярышника, шишками хмеля, листьями мяты перечной, листьями подорожника большого и цветками ромашки аптечной.

Ключевые слова: цветки календулы лекарственной, изорамнетин-3-рутинозид, многокомпонентные растительные смеси, стандартизация, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

A. V. Gudzenko

Development of HPLC method for determination of isorhamnetin-3-rutinoside in multicomponent herbal remedies of *Calendula officinalis L.* flowers

The marker for qualitative and quantitative standardization of *Calendula officinalis L.* flowers in the plant mixtures was established. Isorhamnetin-3-rutinoside can be used as a marker of *Calendula officinalis L.* flowers. The method for the analysis of isorhamnetin-3-rutinoside in monopreparations and multicomponent herbal remedies of *Calendula officinalis L.* flowers using high-performance liquid chromatography (HPLC), was developed. An analytical method based on an optimized solid-phase extraction procedure and followed by high-performance liquid chromatography separation with diode array detection was developed. The chromatographic determination of isorhamnetin-3-rutinoside was carried out with a Waters C18 Symmetry (250× 4.6 mm i.d., 5 μm particle size), as stationary phase, with a flow rate of 1 ml/min and detection at a wavelength of 350 nm. This methodology we used to analyze for monopreparations and multicomponent herbal remedies of *Calendula officinalis L.* flowers. The data obtained indicate, that the content of isorhamnetin-3-rutinoside in raw plant was between (0,2385 ± 0,0121) % and (0,3540 ± 0,0167) % in terms of the dried materials. It has been shown, that the presence and content of isorhamnetin-3-rutinoside in *Calendula officinalis L.* flowers can be standardized in the mixtures with the following plant: fruits of Rosa canina L., leaves and fruits of genus *Crataegus L.*, cones of *Humulus lupulus L.*, leaves of *Mentha piperita L.*, leaves of *Plantago major L.* and flowers of *Matricaria chamomilla L.*

Key words: Calendula officinalis L. Flowers, isorhamnetin-3-rutinoside, multicomponent plant composition, standardization, HPLC

Надійшла: 05.12.2014 р.

Контактна особа: Гудзенко Андрій Вікторович, доктор фарм. наук, провідний науковий співробітник, Державна лабораторія з контролю якості лікарських засобів, ДУ «Інститутит фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 277 41 18. Електронна пошта: ganvi@yandex.ru

УДК 617.735-002-001.15:615.457: 612.843.15

Н. К. Гребень

Ефективність лікування та реабілітації хворих на хоріоретинальні опіки ока

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

Ключові слова: антиоксиданти, фоторецептори, Ліпофлавон, хоріоретинальний опік ока

Важливість проблеми ушкоджуючої дії світла на зір людини очевидна, проте в сучасній офтальмології їй приділяється мало уваги. Дослідження механізмів дії, визначення клінічних особливостей фотоушкодження дозволяє знайти шляхи попередження та лікування патологічних станів органа зору.

Сонячне світло й потужні джерела світлового випромінювання, що використовуються в господарчій та науково-технічній діяльності, а також у побуті, за деяких обставин можуть викликати функціональні та органічні ураження органа зору. Знання цих обставин і своєчасне застосування профілактичних і лікувальних засобів може забезпечити збереження зору в осіб, діяльність яких пов'язана з ризиком світлового ушкодження очей [3, 4].

Хоріоретинальні опіки сітківки є особливим видом уражень ока. Причиною їхнього утворення може бути дія видимої (В), ультрафіолетової (УФ) та інфрачервоної (ІЧ) частин спектра. Вони досить часто виникають при спостереженні за електричною дугою, газовим розрядом, сонцем і сонячним затемненням без спеціальних засобів захисту очей.

При фотоушкодженні сітківки та інших структур ока суттєве значення має спектральний склад джерела випромінювання, оптична система, а також стан антиоксидантної системи фоторецепторів та пігментного епітелію сітківки. Порушення ланок оптичного або антиоксидантного захисту може призвести до розвитку патології хоріоретинального комплексу [1, 7].

© Н. К. Гребень, 2015

Згідно із сучасними уявленнями, світло спричинює утворення вільних радикалів та розвиток неконтрольованого процесу перекисного окиснення ліпідів, тому в офтальмологічній практиці все ширше застосовують антиоксиданти для лікування багатьох очних захворювань [7–9]. Одним з таких лікарських засобів є препарат Ліпофлавон – ліпосомальна форма біофлавоноїда кверцетину, який має антиоксидантні, протизапальні, ангіопротекторні, ранозагоювальні властивості [2, 3, 9] та рекомендований для використання в офтальмології [4–6]. Ліпофлавон у формі очних крапель був досліджений та застосовується в офтальмології при пошкодженні рогівки (проникаючі та не проникаючі), післяопераційних ранах рогівки (після екстракції катаракти), кератитах різного генезу, непроліферативній діабетичній ретинопатії, запальних захворюваннях ока [4–6]. Цей препарат був запропонований нами для лікування хоріоретинальних опіків [7, 8].

Мета дослідження – оцінка клінічної ефективності препарату Ліпофлавон як засобу лікування та реабілітації хворих на хоріоретинальні опіки ока.

Матеріали та методи. З метою з'ясування ефективності включення Ліпофлавону до стандартної схеми терапії світлових ушкоджень ока проведено порівняльний аналіз на двох клінічних групах хворих: I групі – 29 хворим (41 ушкоджене око) до стандартної схеми лікування додавали препарат Ліпофлавон; II групі – 22 хворим (34 ушкоджених ока) на хоріоретинальні опіки застосовували стандартне лікування без антиоксиданту.

Стандартна схема лікування хворих включає:

– протизапальну та десенсибілізуючу терапію, а саме кортикостероїди (дексаметазон по 0,004 г – 0,4 %)

парабульбарно по 1 мл щоденно від 7 до 10 днів, при значному набряку сітківки внутрішньовенно – по 1 мл через одну добу 3–5 разів на курс і в очних краплях (офтан – дексаметазон 0,1 %) по 1–2 краплі 2–3 рази на одну добу протягом 14 днів, хлорид кальцію по 10 мл 10 % розчину внутрішньовенно, чергуючи з осмотерапією протягом 10 днів, діазолін або кларитин всередину по 0,05 г 2 рази на одну добу;

– осмотерапію: внутрішньовенні інфузії 10 мл 10 % розчину хлориду натрію, або суміш 20 мл 40 % розчину глюкози та 2 мл 5 % розчину аскорбінової кислоти (чергують з препаратами кальцію протягом 10–14 днів), діакарб всередину по 0,5 г 1 раз на одну добу перші 3 доби, з препаратами калію, потім 1 раз на 3 доби;

– ангіопротектори: мілдронат 25 % внутрішньовенно по 5 мл кожної доби протягом 10 днів, дексаметазон та емоксипін через одну добу, протягом 2 тижнів парабульбарно по 1 мл.

Пацієнтам I групи додатково призначали антиоксидантний препарат – Ліпофлавон: уміст 1 флакону (550 мг лецитину, 15 мг кверцетину) розчиняли в 20 мл 0,9 % розчину натрію хлориду та вводили внутрішньовенно курсом від 3 до 10 днів та призначали в очних краплях: по 1–2 краплі 3 рази на одну добу курсом від 1 до 3 місяців. Середня тривалість лікування становила від 21 доби до 3 місяців, залежно від наслідків фотоушкодження.

Ефективність лікування хворих обох клінічних груп оцінювали на основі визначення гостроти зору, центрального поля зору (ЦПЗ), електрофізіологічних показників: кількісної частоти злиття мерехтінь (КЧЗМ), порога електрочутливості за фосфеном (ПЕЧФ), лабільності зорового аналізатора (ЛЗА), офтальмоскопічних змін у динаміці. Ці показники фіксували до лікування, після лікування, через 1 місяць після отримання опіку.

Для дослідження клінічного стану сітківки хворих застосовували офтальмоскопію, офтальмохромоскопію, офтальмобіомікроскопію очного дна за допомогою лінзи Volk 78D. Для додаткового уточнення стану хоріоретинального комплексу вибірково проводили флюоресцентну ангіографію (ФАГ), оптичну когерентну томографію (Optical Coherent Tomography – OCT).

Статистичну обробку кількісних даних проводили методами варіаційної статистики з розрахунком середньої величини та її похибки. Наявність відмінностей визначали з використанням параметричного t-критерію Стьюдента. Для оцінки достовірності одержаних результатів було обрано рівень значимості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. За результатами оцінки функціонального стану зору встановлено, що гострота зору в I групі підвищилася в 88,4 %, у II групі – у 79,59 % хворих, у решти пацієнтів гострота зору залишилася без змін. У результаті лікування динамічні зміни поля та гостроти зору відмічено в I і II клінічних групах. У I групі показник центрального поля зору достовірно покращився після проведеного лікування на 10,8 %, а гострота зору – на 38,3 % ($p < 0,05$), у II групі – на 4,2 % та 12,5 % ($p < 0,05$) відповідно. У частини пацієнтів обох груп величина центрального поля зору та гостроти зору залишилися на рівні вихідних величин до лікування (табл. 1).

Аналіз даних гостроти зору та центрального поля зору у хворих на хоріоретинальні опіки показав, що динамічний зсув функціональних показників гостроти зору максимальний – у I групі та незначний – у II групі. Найефективніше підвищення зорових функцій спостерігали в I групі при лікуванні за схемою загальної терапії з використанням Ліпофлавону.

При проведенні біомікроскопічного та офтальмоскопічного обстеження хворих на хоріоретинальні опіки до лікування спостерігали в передніх відділах ока: блефароспазм, світлобоязнь, сльозотечу, набряк рогівки, крапчасті поверхневі помутніння. У деяких випадках спостерігали субкон'юнктивальні місцеві крововиливи, незначну ін'єкцію судин кон'юнктиви.

Таблиця 1

Динаміка зорової функції у хворих на хоріоретинальні опіки залежно від способу лікування

Група	Строки обстеження	Гострота зору	Центральне поле зору (S_{cvf}), %
I (n = 41)	До лікування	0,60 ± 0,03	7,40 ± 0,03
	Після лікування	0,83 ± 0,04*	6,60 ± 0,02*
II (n = 34)	До лікування	0,64 ± 0,03	4,80 ± 0,10
	Після лікування	0,72 ± 0,05*	4,60 ± 0,10

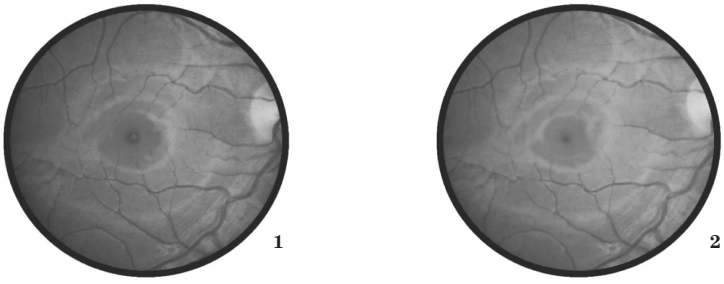
*Примітка. Тут і в табл. 2: *достовірність різниці показників до та після лікування, $p < 0,05$, n – кількість спостережень.*

До лікування у хворих I групи центральний ретинальний опік характеризувався розвитком у макулярній ділянці кистоподібного вогнища з чіткими межами, з елементами просвітлення в центрі вогнища, з явищами гіперемії парафовеолярної ділянки. При офтальмобіомікроскопії не переривалася лінія оптичного зрізу сітківки. На перших стадіях оптичний зріз у зоні вогнища був більший за розміром, контурувалися його межі (рис. 1.1).

Після лікування у хворих I і II групи відмічено позитивні офтальмоскопічні зміни. У I групі спостереження зменшилася зона гіперемії, діаметр вогнища зменшувався зі 158,8 ± 46,8 до 44,5 ± 21,1 після лікування, ($p < 0,05$), з'явилося просвітлення в центрі вогнища в фовеолярній частині макули, яке набувало яскраво-червоного відтінку або червоного з блідими жовтими краями та чіткими межами. Формувалося круглясте вогнище, розмір якого суттєво змінювався на 7–8 добу. Перимакулярний набряк зникав остаточно на 5–6 добу (рис. 1.2).

У пацієнтів II групи повільніше на 8–9 добу зменшувалася зона гіперемії, зона набряку, як перипапілярної ділянки, так і макулярної – зони вогнища. У II групі спостереження вогнище зберігало характерний колір і розмір з чіткими межами, його діаметр зменшувався з 163,2 ± 48,8 до 70,1 ± 23,8 після лікування ($p < 0,05$). Досить довго зберігалися набряк макулярної ділянки сітківки, зона гіперемії біля вогнища та набряк в перимакулярній зоні – до 20 доби. Далі в усіх клінічних групах формувалися дрібні жовтувато-білі фокуси в зоні макули на тлі нерівномірної пігментації.

За даними флюоресцентної ангіографії, оптичної когерентної томографії можна зробити висновок, що при ретинальному опіку в сітківці формується дефект пігментного епітелію, стає більш тонкою або зовсім відсутня мембрана Бруха в зоні опіку, але фоторецепторний шар сітківки цілий, без дефектів, не переривається. На нашу думку, клітини пігментного епітелію сітківки внаслідок дії інтенсивного світла дисоціюють в інші шари сітківки, перерозподіляються, деякі елементи мікропунктури заміщуються гліоцитами і сполучною тканиною в місцях їхнього руйнування, що й викликає неоднорідність структури сітківки. З часом дефекти зменшу-



до лікування після лікування

Рис. 1. Динаміка офтальмоскопічної картини очного дна хворої I групи

ються в розмірах, товщина сітківки менша за оточуючі ділянки (рис. 2).

Поглиблене вивчення зорових функцій дають електрофізіологічні методи дослідження, які також є важливими критеріями оцінки функціонального стану зорового аналізатора після ушкоджуючої дії світла.

Електрофізіологічні показники після лікування змінювались: у I групі відбувалося достовірне зниження порога електрочутливості за фосфеном після лікування на 32,0 %; у II групі – на 10,4 %. Позитивну динаміку показників лабільності зорового аналізатора після лікування реєстрували у хворих обох груп: у I групі показник лабільності зорового аналізатора збільшувався на 31,2 % ($p < 0,05$), у II групі – на 10,6 %. Тенденцію до покращання мали показники кількісної частоти злиття мерехтінь після проведеного лікування в обох групах хворих. У хворих I групи цей показник підвищився на 14,6 % порівняно з показниками до лікування, у II групі – лише на 5,0 %. Середні значення електрофізіологічних показників наведено в таблиці 2.

Клініко-електрофізіологічні показники свідчать про те, що хоріоретинальні опіки призводять до пригнічення діяльності нервових клітин у центральній зоні сітківки. Спираючись на дані проведених досліджень, можна стверджувати, що на відновлювання функцій нейроепітелію позитивно впливає проведена терапія з антиоксидантним препаратом.

Динамічні зміни, що відбуваються при лікуванні в обох групах, підкреслюють необхідність своєчасної діагностики лікування хворих на ретинальні опіки. Максимально виражений позитивний ефект спостерігали у хворих на ретинальні опіки при лікуванні за стандартною схемою у поєднанні з використанням Ліпофлавону. У пацієнтів обох груп ускладнень під час проведення лікування зареєстровано не було.

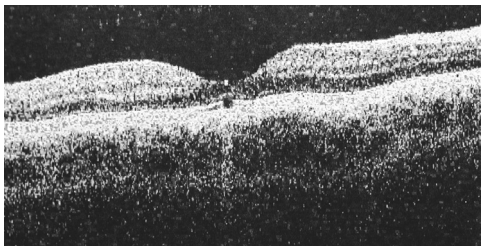


Рис. 2. Оптична когерентна томограма сітківки хворого на хоріоретинальний опік: зменшення товщі фоторецепторного шару, пігментного епітелію сітківки, шару хоріокапілярів

Встановлено позитивний вплив Ліпофлавону на клініко-елекрофізіологічні показники діяльності сітківки у хворих з центральними хоріоретинальними опіками. Застосування Ліпофлавону сприяло збільшенню гостроти зору, зменшенню розмірів центральної скотоми в полі зору, зменшенню зони набряку, гіперемії фовеолярної, парафовеолярної ділянки сітківки та розмірів патологічного вогнища, поліпшенню електрофізіологічних показників. Особливо покращувалася лабільність зорового аналізатора, яка характеризує електрофізіологічний стан центральних ділянок сітківки.

Проведені офтальмологічні дослідження, дані флюоресцентної ангіографії, оптичної когерентної томографії підтверджують результати функціональних досліджень. Вони свідчать про відновлення з часом частини фоторецепторних клітин сітківки в зоні опіку, але відзначається певна неоднорідність

Таблиця 2

Динаміка електрофізіологічних показників у хворих на ретинальні опіки залежно від способу лікування

Група	Етап лікування	Поріг електрочутливості за фосфеном, мкА	Частота злиття мерехтінь, Гц	Лабільність зорового аналізатора, Гц
I (n = 41)	До лікування	173,5 ± 3,8	39,1 ± 3,5	38,2 ±3,8
	Після лікування	118,0 ±1,6*	44,8 ± 3,1	50,1 ± 4,4*
II (n = 34)	До лікування	175,2 ± 3,7	40,5 ± 3,8	40,5 ± 4,0
	Після лікування	157,1 ± 1,6*	42,5 ± 1,3	44,8 ± 2,3

її структури, незважаючи на відновлення функціональної здатності.

У результаті проведених досліджень встановлено ефективність застосування сучасного ліпосомального препарату Ліпофлавон у комплексному лікуванні хворих з центральними хоріоретинальними опіками. Використання антиоксиданту в поєднанні зі стандартною схемою терапії, особливо на ранньому етапі лікування та реабілітації, сприяло поліпшенню клініко-функціональних та електрофізіологічних показників діяльності сітківки, прискоренню реконвалесценції.

Висновки

1. При застосуванні сучасного ліпосомального препарату Ліпофлавон у комплексному лікуванні хворих із хоріоретинальними опіками покращується гострота зору на 38,3 % та електрофізіологічні показники (зменшується поріг електрочутливості за фосфеном на 32,0 %, підвищується лабільність зорового аналізатора на 31,2 %), зменшується показник центрального поля зору на 12,5 %, що співпадає з позитивною динамикою офтальмоскопічних змін.

2. Запропонований спосіб лікування дозволяє значно підвищити ефективність реабілітації хворих на хоріоретинальні опіки ока, особливо на ранніх етапах після ушкодження, сприяє поліпшенню клініко-функціональних показників діяльності органа зору, прискоренню реконвалесценції.

1. *Думброва Н. Е.* Электронно-микроскопические аспекты изменений хориоретинального комплекса и их роль в патогенезе дистрофии сетчатки / Думброва Н. Е., Нестерук Н. И. // Офтальмологічний журнал. – 1992.– № 5–6. – С. 281–285.
2. *Краснопольский Ю. М.* Липидная технологическая платформа для создания новых лекарственных форм и транспорта фармацевтических субстанций / Краснопольский Ю. М., Степанов А. Е., Швец В. И. // Биофармацевтический журнал. – 2011.– Т. 3, № 2.– С. 10–18.
3. Получение комплексного препарата липосом / Краснопольский Ю. М., Григорьева А. С., Конахович Н. Ф., Швец В. И. // «Биотехнология: состояние и перспективы развития» VI Московский международный конгресс: Материалы конгресса. Часть I. – 2011. – С. 411–414.
4. *Пасечникова Н. В.* «Липофлавон» у пациентов после экстракапсулярной экстракции катаракты / Пасечникова Н. В., Горшкова Р. А., Гайдамака Т. Б. // Офтальмологічний журнал. – 2005. – № 3. – С. 23–25.
5. *Пасечникова Н. В.* Клинико-биохимическое обоснование применения препарата «Липофлавон» у больных возрастной катарактой после операции экстракции катаракты и имплантации продуктов перекисного окисления / Пасечникова Н. В., Горшкова Р.А. // Укр. мед. альманах. – 2006.– Т. 9, № 1. – С. 219–221.
6. *Петруня А. М.* Эффект применения глазных капель и инъекционной формы препарата Липофлавон у больных непролиферативной диабетической ретинопатией / Петруня А. М., Спектор А. В. // Офтальмологічний журнал. – 2007. – № 2. – С. 36–39.
7. Клинико-экспериментальное изучение механизмов и проявлений хронического действия ионизирующей и световой радиации на ткани глаза / С. Н. Черняева, В. В. Вит, К. П. Павлюченко, Э. В. Мальцев // Офтальмологічнийжурнал. – 1999. – № 2. – С.83–87.
8. *Степанов А. В*. Патогенетические механизмы реактивного пост лазерного синдрома / Степанов А. В. // Офтальмологічний журнал. – 1995. – № 5–6. – С. 281–286.
9. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes / A. Saija, M. Scalese, M. Lanzaetal. // Free Radic. Biol. Med. – 1995. – V. 19, № 4. – P. 481– 486.

Н. К. Гребень

Ефективність лікування та реабілітації хворих на хоріоретинальні опіки ока

Мета дослідження – оцінка клінічної ефективності препарату Ліпофлавон як засобу лікування та реабілітації хворих на хоріоретинальні опіки ока.

Для з'ясування ефективності включення Ліпофлавону до стандартної схеми терапії світлових ушкоджень ока проведено порівняльний аналіз на двох клінічних групах хворих: I групі – 29 хворим (41 ушкоджене око) до стандартної схеми лікування додавали препарат Ліпофлавон; II групі – 22 хворим (34 ушкоджених ока) на хоріоретинальні опіки застосовували стандартне лікування без антиоксиданту.

Проведені дослідження функцій органа зору у хворих на хоріоретинальний опік обох груп під час та після лікування виявили підвищення функціональних показників, відновлення електрофізіологічного стану сітківки. При порівнянні результатів лікування I і II груп хворих встановлено, що в II групі основні функціональні показники (гострота зору, центральне поле зору, розмір скотоми, електрофізіологічні показники) значно нижчі від показників I клінічної групи.

При застосуванні сучасного ліпосомального препарату Ліпофлавон у комплексному лікуванні хворих із хоріоретинальними опіками покращується гострота зору на 38,3 %, електрофізіологічні

показники, зменшується показник центрального поля зору на 12,5 %, що співпадає з позитивною динамікою офтальмоскопічних змін.

Проведені офтальмологічні дослідження, дані флюоресцентної ангіографії, оптичної когерентної томографії підтверджують результати функціональних досліджень, які свідчать про відновлення з часом частини фоторецепторних клітин сітківки в зоні опіку, але відзначається певна неоднорідність її структури, незважаючи на відновлення функціональної здатності.

Результати дослідження дозволяють розширити можливості застосування сучасних антиоксидантів для лікування фотопошкоджень та дистрофічних уражень органа зору.

Ключові слова: антиоксиданти, фоторецептори, Ліпофлавон, хоріоретинальний опік ока

Гребень Н. К.

Эффективность лечения и реабилитации больных с хориоретинальными ожогами глаз

Цель исследования – оценка клинической эффективности препарата Липофлавон как средства лечения и реабилитации больных с хориоретинальными ожогами глаз.

Для выяснения эффективности включения Липофлавона в стандартную схему терапии световых повреждений глаза проведен сравнительный анализ на двух клинических группах больных: I группе – 29 больным (41 поврежденный глаз) к стандартной схеме лечения добавляли препарат Липофлавон; II группе – 22 больным (34 поврежденных глаза) с хориоретинальными ожогами применяли стандартное лечение без антиоксиданта.

Проведенные исследования функций органа зрения у больных обеих групп во время и после лечения выявили повышение функциональных показателей, восстановление электрофизиологического состояния сетчатки. При сравнении результатов лечения I и II групп больных установлено, что во II группе основные функциональные показатели (острота зрения, центральное поле зрения, размер скотом, электрофизиологические показатели) значительно ниже показателей I клинической группы. Включение современного липосомального препарата Липофлавон в схему комплексного лечения больных с хориоретинальными ожогами приводит к улучшению остроты зрения на 38,3 %, электрофизиологических показателей, уменьшению показателя центрального поля зрения на 12,5 %, что совпадает с положительной динамикой офтальмоскопических изменений.

Проведенные офтальмологические исследования, данные флуоресцентной ангиографии, оптической когерентной томографии подтверждают результаты функциональных исследований, свидетельствующих о восстановлении со временем части фоторецепторных клеток сетчатки в зоне ожога, но отмечается некоторая неоднородность ее структуры, несмотря на восстановление функциональной способности.

Результаты исследования позволяют расширить возможности применения современных антиоксидантов для лечения фотоповреждений и дистрофических поражений органа зрения.

Ключевые слова: антиоксиданты, фоторецепторы, Липофлавон, хориоретинальный ожог глаза

Greben' N.

Effectiveness of treatment and rehabilitation of patients with chorioretinal burns of eyes

The purpose of research was to evaluate the clinical efficacy of Lipoflavon as a mean of treatment and rehabilitation of patients with chorioretinal burns of the eyes.

For evaluation of the effectiveness of the Lipoflavon inclusion in the standard scheme therapy of eyes light damage the comparative analysis of two clinical groups of patients was performed: I group – 29 patients (41 eyes damaged) were treated according to the standard drug regimen and Lipoflavon additionelly; Group II – 22 patients (34 eyes damaged) with chorioretinal burns used standard treatment without an antioxidant.

Studies of organ functions in both groups of patients during and after treatment revealed the improvement of functional parameters, the recovery of electrophysiological state of the retina. When comparing the results of the treatment I and II groups of patients, it was found that in the II group the basic functional parameters (visual acuity, central visual field, the size of the cattle, electrophysiological parameters) were significantly lower than in I clinical group (under Lipoflavon treatment). The inclusion of modern liposomal drug Lipoflavon in the scheme of complex treatment of patients with chorioretinal burns leads to an improvement in visual acuity by 38,3 %, electrophysiological parameters, decrease of the central field of view by 12,5 %, which coincides with the positive dynamics of ophthalmoscopic changes.

Conducted ophthalmologic studies, data fluorescein angiography, optical coherence tomography confirmed the results of functional studies showing restoration over time the photoreceptor cells of the retina in the area of the burn, but there is some heterogeneity of its structure, despite the restoration of functional ability.

The results of the study help to extend the application of modern antioxidant for the treatment of photodamage and degenerative lesions of the eyes.

Key words: antioxidants, photoreceptors, Lipoflavon, chorioretinal burns of eyes

Надійшла: 08.12.2014 р.

Контактна особа: Гребень Наталія Костянтинівна, кандидат медичних наук, доцент, кафедра офтальмології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 13, бульв. Т. Шевченка, м. Київ, 01601. Тел.: +38 0 67 527 33 11.

Памяти Платона Григорьевича Костюка
Слово об учителе

10 мая 2015 года исполняется 5 лет с тех пор, как от нас ушел академик Платон Григорьевич Костюк – один из крупнейших физиологов современности, выдающийся ученый с мировым именем.

Сведения о научном наследии П. Г. Костюка в области нейрофизиологии, молекулярной биологии и клеточной биофизики можно почерпнуть из разнообразных источников – справочников и энциклопедий, где отмечено, что Платон Григорьевич впервые в мировой науке разработал методику внутриклеточного диализа сомы нервной клетки и применил ее для исследования мембранных и молекулярных механизмов функционирования нейронов. Он сделал существенный вклад в раскрытие гомеостаза ионов кальция в нервных клетках и его нарушений при мозговой патологии, ишемии/гипоксии, эпилепсии, сахарном диабете, болевых синдромах, фенилкетонурии и многих других. Изобилуют эти источники также перечислением многочисленных научных регалий и наград Платона Григорьевича, как отечественных, так и зарубежных. Однако всего этого недостаточно, чтобы представить себе, какими были чисто человеческие отношения с окружавшими его людьми, о чем в энциклопедиях обычно не пишут. Эта сторона жизни Платона Григорьевича заслуживает особого внимания, ибо был он человеком огромного интеллекта и высочайшей культуры, а также прекрасным организатором. Естественно, это не могло не сказаться на всестороннем благотворном его влиянии как на отдельных научных сотрудников, в чем я смог убедиться на себе лично, так и на коллектив в целом, а, в конечном итоге, – на уровень проводимых исследований, ради чего, собственно, научный коллектив и создают. Именно на этом аспекте, пусть даже фрагментарно, позволю себе остановиться, поскольку судьба оказала

мне большую честь работать длительный период времени рядом и вместе с этим великим ученым и человеком.

Часто в воспоминаниях различного рода можно встретить такие выражения, как «мой Пушкин», «Резерфорд, каким я его знал» и т. п., свидетельствующие о том, что у многих людей в жизни был человек, тем или иным образом повлиявший или даже изменивший их судьбу. Именно таким человеком в моей жизни оказался Платон Григорьевич. Попал я в возглавляемый им коллектив из далекого Урала, где в конце 70-х годов прошлого столетия работал на кафедре физиологии и биофизики Оренбургского мединститута. В общении с известными физиологами того времени, близкими мне по роду деятельности, Г. П. Конради, Р. С. Орловым, В. А. Левтовым и В. М. Хаютиным, которые жили и работали в Москве и Ленинграде, у меня постепенно сформировалось твердое убеждение в том, что для дальнейшего совершенствования научных знаний, лучшим местом работы для меня должен стать Институт физиологии имени А. А. Богомольца АН УССР в Киеве, директором которого был Платон Григорьевич Костюк. Так все и получилось – сначала была защита моей кандидатской диссертации в этом институте, а затем и переезд в Киев.

Платон Григорьевич Костюк – как много значит для меня и теперь, спустя многие годы, эта знакомая и такая близкая всем его ученикам и сотрудникам аббревиатура – ПГ.

У каждого из нас, сотрудников Института физиологии имени А. А. Богомольца, в памяти остался свой ПГ. Это понятно, ведь все люди (большие личности не исключение) открываются своим современникам именно с той стороны, которая в большей степени соответствует не только характеру контактера, но, прежде всего, той степени доверия, которое испытывает Личность к тому, с кем вместе работает, общается, разговаривает.

Лично мне особенно дорог был один момент в хорошо известной биографии ПГ: «В 1941 – начале 1942 гг. – студент Сталинградского мединститута». В эти же годы студенткой Сталинградского мединститута была и моя мама. Оттуда она и ушла на войну медсестрой. К тому времени, когда я узнал о существовании этого периода в жизни ПГ, спросить маму о том, не приходилось ли им пересекаться, уже не было возможности. ПГ я тоже ничего не сказал. Так это и осталось моей, пусть маленькой, но приятной тайной, то, что он мог видеть мою маму совсем молодой. Это делало его как-то более близким и даже немного родным даже тогда, когда он был для меня просто Директором, и в моем багаже общения с ПГ была лишь одна единственная беседа (при поступлении на работу).

Я не был непосредственным учеником ПГ, работал в отделе физиологии кровообращения, но влияние этого человека на мое развитие и становление как ученого трудно переоценить. Забегая вперед, могу заметить, что когда ПГ уже не стало, я почти потерял интерес к выступлениям на заседаниях Спецсовета при Институте физиологии имени А. А. Богомольца. Оказалось, что для меня было важно делать это в его присутствии, чтобы именно он мог оценить то, о чем я докладываю, особенно, если речь шла об электрофизиологии. Кому-то может показаться смешным, но это ощущение не покидало меня и тогда, когда я уже стал совершенно самодостаточным человеком и работал в другой научной организации. И это отнюдь не было желанием сотворить себе кумира. Тем не менее, с первых дней работы в Институте физиологии стремление приблизиться к некому идеалу ученого, нарисованному в моем воображении, стало для меня источником и движущей силой совершенствования.

Я не стал нейрофизиологом, чем, кстати, удивил ПГ еще при нашей первой беседе, отказавшись от работы в его отделе. Объяснил я это тем, что уже обещал профессору М. И. Гуревичу, заведующему отделом физиологии кровообращения. Но зато нейрофизиологом стала моя дочь Наташа, которую после того, как она получила высшее образование, я, конечно же, не мог не убедить поступать в аспирантуру к ПГ. Работая в области физиологии гладких мышц, я всегда твердо знал, что существует нераз-

рывная связь между метаболизмом мозга (кровообращением) и его функцией (генерацией электрической активности). Действительно, какова может быть эффективность метаболизма без надлежащего кровоснабжения? Как-то в беседе с ПГ я сказал, что мы не сможем понять, как работает нейрон до тех пор, пока не расшифруем механизмы его кровоснабжения. Я был счастлив, когда он со мной согласился. Это было задолго до того, как у нас появились совместные научные интересы.

Вся научная жизнь ПГ, начиная со студенческих лет, была посвящена тому, чтобы понять принципы работы мозга. Если вдуматься, задача – непосильная для смертного человека. Позволю себе несколько отвлечься на некую цифровую «эквилибристику». Если рассматривать коэффициенты взаимосвязей нейронов как регулируемые параметры, учитывая общее количество нейронов, то получается порядка 10^{14} параметров для 10^{10} клеток. Таким образом, для характеристики только структурных взаимосвязей мозга понадобилось бы проанализировать около 10^{14} параметров. Средняя продолжительность жизни человека – около $2 \cdot 10^9$ секунд. Таким образом, каждую секунду своей жизни исследователю нужно было бы регистрировать более $5 \cdot 10^4$ параметров. Это, конечно, игра в числа, но тем не менее. Да и как можно измерить хотя бы малую часть этих самых параметров, не разрушив при этом сам мозг?

Поэтому не удивительно, что ПГ решил исследовать работу мозга на различных уровнях: от психологического, как это делал его отец – Григорий Силович Костюк, действительный член Академии педагогических наук СССР, – до клеточного. Другими словами, была предпринята попытка понять, как из клеток, обладающих известными свойствами, можно строить функциональные системы, которые вели бы себя подобно подсистемам, уже обнаруженным нейрофизиологами. И, наконец, вот он, его уровень – электрофизиология клеточных мембран и клеточные сигнальные системы, регулирующие функцию ионных каналов.

Понятно, что никаких резких границ между этими уровнями нет, ученый, условно говоря, вынужден «бегать к соседям» на верхние или нижние уровни, чтобы скорректировать и верифицировать свои данные. ПГ всегда мог легко оторваться от своего «молекулярного фундамента» и обратить внимание, например, на такую проблему, как оксигенация, то есть снабжение нейрона кислородом. В то время мне пришлось претерпеть серьезные испытания в попытках доказать существование так называемого кислородного сенсора в гладких мышцах сосудов. Как же я был счастлив, когда он предложил мне заняться этой проблемой совместно, добавив в качестве объекта исследований и нервные клетки. Мы получили грант INTAS на 3 года.

Эти 1995–1997 годы, наверное, были самыми счастливыми в моей научной биографии. К нашей украинской команде (ПГ, Лена Лукьянец и я) добавились Дэвид Браун – друг ПГ из Великобритании, а также Пэр Хэллстренд – мой первый зарубежный руководитель из Швеции.

Вот так, вольно или невольно, я подобрался к проблеме роли личности в истории вообще и роли большого ученого-творца в развитии науки. Понятно, что наука – это познание законов природы. Если эти законы едины, то путь науки уже предопределен и ни один человек не может его изменить. Если это так, то гениального человека представляется возможным заменить коллективом менее способных людей. Можно, но это должен быть очень хорошо организованный коллектив. И вот тут-то возникает «закавыка»: как собрать такой коллектив? Его можно собрать под обещанную хорошую зарплату, но с этим даже в советской науке того времени всегда были проблемы. В реальности потенциально успешный научный коллектив собирается только вокруг выдающегося человека, как капельки воды собираются вокруг ядра конденсации. Научной армии нужен «полководец» – обладатель некоего творческого дара, таланта.

Можно с уверенностью сказать, что успех работы научного коллектива

полностью зависит от творческих качеств сотрудников. Как писал академик П. Л. Капица, эта зависимость является экспоненциальной, при этом в показатель степени должны входить творческие способности всего коллектива. Этот показатель велик, и поэтому в случае даже небольшого его понижения, творческая деятельность коллектива становится никчемной. И вот тут и кроется ответ на вопрос о роли личности – появление даже одного выдающегося ученого значительно повышает эффективность работы всего коллектива.

Когда и при каких условиях возможен расцвет науки? Вспомним эпоху Возрождения. В последующие пять веков ничего подобного уже не было. В эпоху Возрождения таланты, подобные Рафаэлю и Леонардо, могли успешно развиваться только благодаря существовавшему тогда воистину трепетному отношению общества к искусствам и науке. В наше время становится модным и даже обязательным ругать прошлые годы, но нынешнее положение науки подсказывает правильный ответ – в годы расцвета таланта ПГ заниматься наукой было намного престижней.

Людей, обладающих значительным творческим складом ума, и в силу этого способных влиять на развитие науки, очень мало. В то же время, успешное развитие науки в стране возможно только в том случае, когда существует достаточно большой набор научных работ, из которых происходил бы отбор исследований, способных реально двигать науку вперед. Очень важным делом является отбор по настоящему одаренной в научном плане молодежи. Я всегда буду помнить семинары, проводимые ПГ в Институте физиологии, с их кипящей, искрящейся молодежной аудиторией. Ох, как непросто было там выступать. Но как же дороги были слова ПГ – «Это был лучший семинар за последние годы!». Может быть, он тогда и несколько преувеличивал, возможно, но для меня это была, пожалуй, одна из самых больших наград за все годы жизни в науке.

Счастливым случаем было то, что в начале своего научного пути ПГ попал к Д. С. Воронцову – одному из основоположников современной электрофизиологии. Вряд ли можно назвать большой удачей то, что в разграбленном войной Киеве практически не было лабораторного оборудования, и многие приборы, необходимые для постановки эксперимента, ПГ пришлось делать своими руками. Но все это сформировало в нем исследователя, перед которым не было преград. Ныне отсутствие необходимых приборов пугает большинство молодых исследователей, а проявить инициативу и найти пути преодоления такой ситуации, к сожалению, способны немногие.

ПГ не стал рабом техники, он стал ее хозяином. Он сам решил чем ему заниматься, а не полагался на тот скудный выбор технического парка, который ему предлагала киевская послевоенная лаборатория. Кстати, в Кембридже в свое время существовала традиция, по которой молодые ученые, желающие совершенствоваться в области электрофизиологии, должны были своими руками конструировать простейшие электронные приборы, и лишь после этого их допускали к работе на аппаратуре фабричного изготовления. Не всем это нравилось, но в последующей своей деятельности все они смогли оценить роль такого подхода. Подобно кембриджской традиции, ПГ тоже пришлось пройти этот путь, только в дальнейшем ему пришлось проводить исследования не на фабричных, а на «home made» приборах. Прошло немногим более 10 лет и результаты этих исследований по достоинству были оценены величайшим австралийским нейрофизиологом, лауреатом Нобелевской премии по физиологии и медицине сэром Дж. К. Экклсом. Он был изумлен методическими разработками ПГ и пригласил его к себе в Канберру для проведения совместных экспериментов. Вот уж действительно, как у А. С. Пушкина «...старик Державин нас заметил и в гроб, сходя, благословил...» Кто-то может сказать – счастливый случай, но я полагаю, что судьба так улыбается только отмеченным перстом божьим и искренне увлеченным людям.

Основной талант ПГ, как директора Института, заключался, на мой взгляд, в его умении правильно оценить творческий потенциал молодого сотрудника. И этим людям он уже верил и не докучал мелочной опекой, а предоставлял свободу действий. Именно это позволило ему создать научный коллектив, равного которому не было на всей территории СССР, а затем и СНГ, коллектив, который стал широко известным и уважаемым во всем мире. Не удивительно, что таким руководителем не просто гордились, он был всеобщим любимцем.

Все дальше уходит в прошлое тот день, когда мы навсегда простились с нашим Платоном Григорьевичем. Но, как и прежде, я вижу свет этой далекой звезды. По-прежнему тянусь и все никак не могу дотянуться до ее сверкающих граней. Стараюсь приблизиться, часто сознавая невозможность этого, к уносящемуся в бесконечность и ускользающему идеалу. Может быть, в этом и есть причина и смысл постоянного движения вперед и самосовершенствования. Для тех счастливцев, у которых есть такая звезда.

Путь науки во многом предопределен. Тем не менее, скорость движения локомотива науки на этом пути определяется научной и организационной деятельностью очень небольшого числа исключительно одаренных людей. Таким был и навсегда останется в нашей памяти академик Платон Григорьевич Костюк – человек, ставший еще при жизни национальной гордостью не только Украины, но и достоянием всей мировой общественности.

Анатолий Соловьев,
доктор медицинских наук, профессор,
дважды лауреат Государственной
премии Украины в области
науки и техники

СОДЕРЖАНИЕ

ОГЛЯДИ

Дронова М. Л., Врынчану Н. А., Дудикова Д. М. Новые антибиотики хинолонового ряда: перспективы применения в клинической практике 3

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

Беленичев И. Ф., Литвиненко Е. С. Ферментативное и неферментативное звено тиол-дисульфидной системы в головном мозге экспериментальных животных с церебральной ишемией: эффекты селеназы 13

Громов Л. А., Гончар-Чердакли Л. Г., Ворожбит А. П., Тарнавская Л. С., Пишель В. Я., Ярош А. К. Экспериментальное исследование полушарной асимметрии антидепрессивных эффектов амитриптилина 19

Дейко Р. Д., Штрыголь С. Ю., Колобов А. А., Мищенко О. Я. Коррекция неврологических и когнитивных нарушений при церебральной ишемии оригинальными нейроактивными олигопептидами 24

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Дроговоз С. М., Дмитренко С. В., Штробля А. Л., Вашкеба-Битлер Е. М. Хронофармакологические особенности действия вольтарена 30

Загайко А. Л., Брюханова Т. А, Кочубей Ю. И., Мусмари М. А., Коваленко С. Н. Экспериментальное исследование фармакологической активности новых ингибиторов JNK 37

Калько Е. А., Дроговоз С. М., Иванцик Л. Б. Влияние циркадианных и сезонных биоритмов на активность ферментов цитолиза у интактных крыс 43

Клеванова В. С., Тржецинський С. Д. Жерновая Г. А. Противодиабетические свойства черноголовника кровохлебкового (*Poterium sanguisorba L.*) в условиях дексаметазонового диабета у крыс 48

Лукьянчук В. Д., Сейфуллина И. И., Шебалдова Е. А., Марцинко Е. Э. Исследование актопротекторной активности нового антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3 после перенесенной гипоксии замкнутого пространства 53

Мосиенко В. С., Кущевская Н. Ф., Бурлака А. П., Шляховенко В. А., Лукин С. Н., Куртсеитов Л. К., Карнаушенко Е. В., Вербиненко А. В. Исследования противоопухолевых свойств ферромагнитных наночастиц оксида железа и их композитов на перевивных опухолях у мышей 59

Ниженковская И. В., Нароха В. П., Кузнецова Е. В., Брюзгина Т. С., Сейфуллина И. И., Марцинко Е. Э., Чебаненко Е. А. Влияние никотиновой кислоты и комплекса германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1) на жирнокислотный состав липидов кардиомиоцитов и гепатоцитов крыс с моделью хронической сердечной недостаточности 68

Рыбак В. А., Малоштан Л. Н., Полторак В. В., Красова Н. С. Изучение антиоксидантных свойств густого экстракта фасоли на модели сахарного диабета 2 типа на фоне ожирения у крыс 76

РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ

Гудзенко А. В. Разработка ВЭЖХ методики определения изорамнетин-3-рутинозида в лекарственных средствах цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*) 82

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Гребень Н. К. Эффективность лечения и реабилитации больных с хориоретинальными ожогами глаз 88

ЛИЧНОСТИ

Памяти Платона Григорьевича Костюка. Слово об учителе 94

CONTENT

REVIEWS

Dronova M., Vrynchanu N., Dudikova D. New quinolone antibiotics: clinical perspectives 3

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

Belenichev I. F., Lytvynenko E. S. Enzymatic and non enzymatic links of thiol-disulfide link system in the brain of experimental animals with cerebral ischemia: effects of selenaze 13

Gromov L. O., Gonchar-Cherdakli L. G., Vorozhbit A. P., Tarnavska L. S., Pishel V. J., Yarosh A. K. Experimental investigation of hemispheric asymetry of amitriptyline antidepressant effects 19

Deiko R. D., Shtrygol' S. Yu., Kolobov A. A., Mishchenko O. Ya. The correction of neurological and cognitive disorders on the model of cerebral ischemia using original neuroactive oligopeptides 24

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

Drogovos S. M., Dmytrenko S. V., Shtroblya A. L., Vashkeba-Bitler E. M. Chronopharmacological features of voltaren's action 30

Zagayko A. L., Briukhanova T. A., Kochubey Y. I., Musmari M. A., Kovalenko S. N. Experimental research of JNK new ingibitors' pharmacological activity 37

Kalco E. A., Drogovoz S. M., Ivantsik L. B. Influence of circadian and seasonal biorhythms on the cytolytic enzymes activity in intact rats 43

Klevanova V. S., Trzhetsynskyy S. D. Gernova G. O. Antidiabetic properties of blood burnet (*Poterium sanguisorba L.*) under dexamethasone diabetes 48

Lukyanchuk V. D., Seifullina I. I., Shebaldova K. O., Martsinko O. E. Actoprotective activity of the new antihypoxant VITAGERM-3 after hypoxia of an enclosed space 53

Mosiyenko V. S., Kushchevskaya N. F., Burlaka A. P., Shlyakhovenko V. A., Lukin S. M., Kurtseitov L. K., Karnaushenko O. V., Verbynenko A. V. Investigation of anticancer properties of ferromagnetic iron oxide nanoparticles and their composites on transplantable tumors in mice 59

Nizhenkovskaya I. V., Narokha V. P., Kuznetsova O. V., Bryzgina T. S., Seifullina I. I., Martsinko E. E., Chebanenko E. A. Effects of nicotinic acid and complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1) on lipid fatty acid composition of cardiomyocytes and hepatocytes in rats with experimental chronic heart failure 68

Rybak V. A., Maloshtan L. M., Poltorak V. V., Krasova N. S. The study of antioxidant properties of the thick beans extract on the model of type 2 diabetes against the background of obesity in rats 76

WORKING OUT OF THE NEW METHODICAL WAYS

Gudzenko A. V. Development of HPLC method for determination of isorhamnetin-3-rutinoside in multicomponent herbal remedies of *Calendula officinalis L.* flowers 82

CLINICAL PHARMACOLOGY

Greben' N. Effectiveness of treatment and rehabilitation of patients with chorioretinal burns of eyes 88

PERSONALITY 94