
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.

№ 4–5(45)/2015

Виходить 1 раз на 2 місяці

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

- Бухтіарова Т. А.* Інноваційні лікарські засоби, схвалені FDA
протягом 2011–2014 років (аналітичний огляд) 3
- Мохорт Н. А., Геращенко И. В., Притула Т. П.* Фармакологические
эффекты токолитиков при преждевременных родах 17

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

- Громов Л. О., Черноштан К. О., Мовчан О. Д., Тарнавська Л. С., Ярош О. К.
Домінуюча участь півкуль головного мозку в антидепресивних ефектах
флуоксетину та пірліндолу 27
- Мироненко С. І., Піняжко О. Р., Лесик Р. Б.* Скринінг сполук з протисудомною
активністю серед похідних 4-тіазолідинону 33

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

- Дринь Д. О., Мельник М. І., Кізуб І. В., Жолос О. В., Соловійов А. І.* Функціональна
експресія та роль TRPV4-каналів у регуляції тону легеневої артерії щура 39
- Іванов Л. В., Картель Н. Т., Ляпунов А. Н., Нардід О. А., Черкашина Я. О.,
Деримедвідь Л. В., Кирилюк І. А.* Вивчення механізмів цитотоксичності низки
гідрофільних полуксамерів методом спінових зондів 46
- Клеванова В. С., Тржецинський С. Д.* Антидіабетичні властивості
чорноголовника родовикового за умов високожирової дієти в щурів 59
- Мешкова Н. О., Міщенко О. В., Захаренко В. В., Шарикіна Н. І.* Цитостатична
дія α_1 -адреноблокаторів – похідних хіназоліну 65
- Серединська Н. М., Ядловський О. Є., Бершова Т. А., Омеляненко З. П.,
Хоменко В. С., Киричок Л. М.* Оцінка інтегральних показників життєдіяльності
в щурів за умов комбінованого застосування нестероїдних протизапальних
засобів та антагоніста кальцію на моделі ревматоїдного артриту, поєданого
з артеріальною гіпертензією 69
-

<i>Сімонов П. В.</i> Дослідження гострої токсичності наночастинок міді при внутрішньошлунковому введенні мишам.....	79
<i>Товчига О. В., Горбач Т. В., Штриголь С. Ю., Степанова С. І.</i> Вплив препаратів яглиці звичайної (<i>Aegorodium podagraria</i> L.) на показники ліпідного обміну в щурів на тлі одноразового введення етанолу	87
<i>Шевчук О. О.</i> Вплив вуглецевого ентеросорбенту та гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, порушений на тлі застосування алкілюючого цитостатику мелфалану	97
<i>Юрченко А. І., Степанюк Г. І., Коваленко С. І., Шабельник К. П., Альчук О. І.</i> Порівняльна оцінка впливу 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (сполуки ПК-66) та диклофенаку натрію на перебіг ад'ювантного артриту в щурів	103

ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ, ФАРМАКОЕКОНОМІКИ

<i>Кузнецов И. Э.</i> Фармакоэкономические аспекты применения ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа для лечения пациентов с эректильной дисфункцией	108
--	-----

ПОДІЇ

<i>Віленський Ю.</i> Енергетика й досвід вищої школи – «вічний двигун» фармакології (роздуми про традиційну нараду завідувачів профільних кафедр вищих навчальних закладів МОЗ України)	117
---	-----

ІНФОРМАЦІЯ З БЕЗПЕКИ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

За сторінками журналу «WHO Pharmaceuticals Newsletter»	119
--	-----

ОСОБИСТОСТІ

До ювілею члена-кореспондента НАМН України, заслуженого діяча науки і техніки України, професора Юрія Івановича Губського	123
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ	125
-------------------------	-----

CONTENT	127
----------------------	-----

Т. А. Бухтіарова

Інноваційні лікарські засоби, схвалені FDA протягом 2011–2014 років (аналітичний огляд)

ДУ «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: нові молекулярні
субстанції, FDA

Одним з лідерів розвитку світового фармацевтичного ринку і важливих показників фінансового здоров'я фармацевтичної промисловості та окремих компаній є виведення на ринок лікарських засобів на основі нових молекулярних субстанцій (NME's) як хімічного, так і біологічного походження. Аналіз інновацій свідчить про високу активність Адміністрації з лікарських засобів та харчових продуктів США (Food and Drug Administration, FDA) – світового лідера у схваленні інноваційних ліків (69 % інноваційних ліків, що отримали доступ для маркетингу в США протягом 2011–2014 років, були схвалені FDA до відповідного схвалення компетентними органами інших країн). Зважаючи на це, вважалось цікавим здійснити аналіз інновацій 2011–2014 років за відповідними матеріалами FDA [1–4].

На рисунку надано динаміку схвалення NME's у 2005–2014 роках. Найвираженіше падіння числа схвалених продуктів спостерігали в 2005–2010 роках з піком падіння в 2007 році. Починаючи з 2011 року інноваційна активність поступово підвищується (рисунок). Зокрема, якщо в 2005–2011 роках Центр з оцінки лікарських засобів та досліджень FDA (FDA's Center for Drug Evaluation and Research, CDER) схвалював у середньому 22 інноваційні продукти на 1 рік, то в 2011–2014 роках – 34. Найпродуктивнішими були 2012 та 2014 роки.

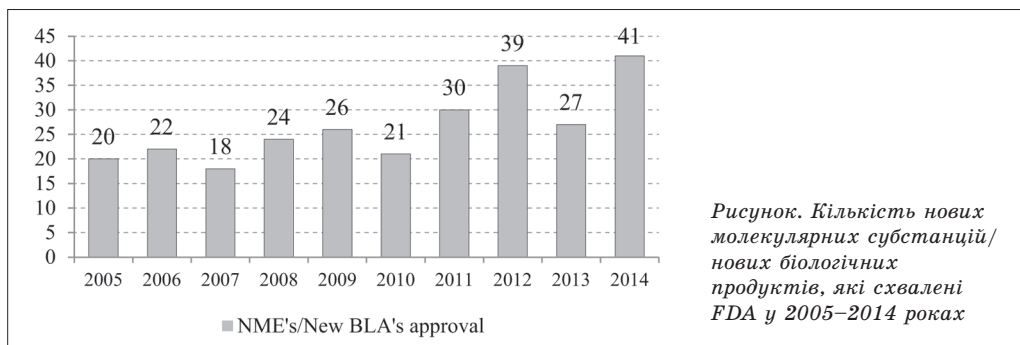
У 2011–2014 роках CDER схвалено, у цілому, 137 принципово нових лікарських засобів (до цієї кількості включе-

ні препарати, що розглядалися як за заявами на нові лікарські засоби (NDA's), так і за заявами для отримання ліцензії на біологічні продукти (BLA's), у тому числі 50 (36 %) «ліківсирит», які призначені для лікування захворювань, що зустрічаються менше, ніж у 200 000 осіб у США. При цьому зросла і значущість інновацій. Так, зі схвалених у 2011–2014 роках 137 NME's – 59 (43 %) були кваліфіковані як «перші у класі», а 12 (8,75 %) – як «прорив».*

Активність FDA щодо схвалення інноваційних ліків, певною мірою, є наслідком використання низки програм (як самостійно, так і в комплексі), що мають на меті забезпечення раннього доступу хворих до нового лікування. До них відносять, зокрема, «Швидкий шлях» (Fast Track), «Пріоритетний розгляд» (Priority Review), «Прискоре-

*«Перший в класі» (First in class) – важливий показник інноваційної природи препарату, зокрема в зв'язку з тим, що його дія може базуватися на нових або унікальних механізмах дії порівняно з існуючими.

«Прорив» (Breakthrough) – використовувана CDER програма для схвалення препаратів з попередніми клінічними підтвердженнями того, що їхнє використання може призвести до суттєвого покращання, у меншій мірі, однієї клінічно значущої точки (тобто результату випробування) порівняно з іншими доступними методами лікування. Запроваджена після 9 липня 2012 р. програма включає всі можливості програми «Fast Track», а також більш інтенсивне використання керівництва FDA з ефективної програми розробки лікарських препаратів. 2013 р. став першим роком, коли декілька нових препаратів (Gazyva, Imbruvica, Sovaldi) було схвалено за цієї програмою. У 2014 р. кількість препаратів зі статусом «прорив» зросла до 9 (Blincyto, Esbriet, Harvoni, Keytruda, Ofev, Opdivo, Viekira Pak, Zydelig, Zykadia).



не схвалення» (Accelerated Approval), «Схвалення на першому циклі» (First cycle approval) та деякі інші [5–9].

Програма «Швидкий шлях» (Fast Track) використовується для препаратів з потенціалом для вирішення незадоволених медичних потреб. Її застосування прискорює розробку нових ліків та їхній розгляд, наприклад, шляхом підвищення рівня спілкування FDA з розробником. Це дозволяє CDER здійснювати процес поетапного розгляду («rolling review»), за якого CDER має можливість розглядати окремі додатки до заяви до надання усіх необхідних додатків.

«Пріоритетний розгляд» (Priority Review) – програма, що використовується для схвалення препаратів, які потенційно забезпечують суттєвий прогрес медичної допомоги. При цьому CDER ставить перед собою завдання розглянути заяву протягом 6 міс замість стандартних 10 міс. Лікарські засоби, які визначені для пріоритетного розгляду, можуть бути схвалені на «першому циклі схвалення», тобто без запиту додаткової інформації, представлення якої може призвести до нового циклу розгляду та затримки схвалення. Зокрема, з 15 NME's, визначених у 2011 році для пріоритетного розгляду, 13 (87 %) були схвалені на першому циклі. Це особливо важливо через те, що препарати, визначені для пріоритетного розгляду, мають потенціал як значущі медичні досягнення в галузі охорони здоров'я. Важливо, що кількість препаратів, схвалених на першому циклі, зросла практично вдвічі в 2013–2014 роках порівняно з 2011–2012 роками.

«Прискорене схвалення» (Accelerated Approval) – програма, що спрямована

на раннє схвалення препаратів для лікування серйозних або загрожуючих життю захворювань, для яких передбачається перевага перед існуючою терапією. Таке схвалення базується на «сурогатній» кінцевій точці (наприклад, лабораторних або інших клінічних показниках, які вважаються розумними для передбачення клінічної користі від застосування препарату). Після «прискореного схвалення» лікарський засіб має пройти додаткове тестування для підтвердження вигоди від його застосування.

Прийнятий для стимулювання виходу на ринок антибіотиків у США The Generating Antibiotics Incentives Now Act (GAIN Act) надає стимули для прискореного виходу на ринок цих препаратів. Згідно з GAIN Act, препарат має бути визначений як продукт для лікування інфекційних захворювань (Qualified Infectious Disease Program, QIDP). У 2014 році CDER схвалив 4 нових антибіотики з позначкою QIDP, які являють собою нові оригінальні препарати (Dalvance, Sivextro та Orbactiv для лікування бактеріальних інфекцій шкіри та її структур, а також Zerbaxa для лікування інтраабдомінальних інфекцій та інфекцій сечовивідних шляхів). Такі програми можуть бути започатковані й експертними органами України.

Важливо, що в разі розгляду лікарських засобів на предмет схвалення FDA не обмежується лише одним з вищеперелічених підходів. У більшості випадків використовується декілька з них, іноді – повний набір. Наприклад, у 2011 році повний набір був використаний, зокрема, щодо препарату Adcetris, призначеного для лікування лімфоми Ходжкіна та системної анапластичної

крупноклітинної лімфоми; у 2012 році – препаратів Iclusig (для лікування дорослих пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією та гострою лімфобластною лейкемією з позитивною філадельфійською хромосомою) та Sirturo (для застосування в складі комбінованої терапії стійких до існуючого лікування форм туберкульозу легень у дорослих); у 2014 році – препаратів Esbriet (для лікування ідіопатичного фіброзу легень) та Zydelig (для лікування пацієнтів з трьома типами раку крові).

Широке використання CDER нормативних методів прискорення розробки та схвалення дозволили скоротити час від дати подання заяви до дати схвалення низки препаратів. Зокрема, пре-

парат Gazyva був схвалений за 6,3 міс, Xofigo та Stivarga – 5 міс, Erivedge – 4,7 міс, Imbruvica – за 4,5 міс, Kalydeco – за 3,5 міс, Xtandi – за 3,3 міс, Iclusig – 2,6 міс замість нормативних 10 міс. Надзвичайно важливо, що в усіх випадках, прагнучи підвищити ефективність розгляду та схвалення заяв на нові ліки, CDER не знижує свої високі стандарти до оцінки їх ефективності та безпеки.

Аналіз схвалених FDA протягом 2011–2014 рр. інноваційних препаратів за належністю до певних груп (табл. 1) показав, що серед них левову частку – 36 з 137 (26 %) – становлять лікарські засоби для лікування онкологічних захворювань, у тому числі

Таблиця 1

Інноваційні лікарські засоби (ЛЗ), схвалені FDA у 2011–2014 роках, за належністю до певних фармакотерапевтичних груп

АТС група/підгрупа	Кількість	Торговельна (міжнародна непатентована) назва
А Травний тракт та метаболізм	17	
A04 Засоби проти нудоти та блювання	1	Akynzeo (<i>netupitant and palonosetron</i>)
A06 – Проносні засоби	3	Prepopik (<i>sodium picosulfate, magnesium oxide, and anhydrous citric acid</i>), Movantik (<i>naloxegol</i>); Linzess (<i>linaclotide</i>) ¹
A07 – Протидіарейні препарати та протизапальні/ протимікробні засоби, що діють у кишечнику	1	Dificid (<i>fidaxomicin</i>)
A08 – Препарати проти ожиріння, виключаючи дієтичні продукти	1	Belviq (<i>lorcaserin hydrochloride</i>) ¹
A10 – Препарати, що знижують рівень глюкози в крові, за винятком інсулінів	6	Tradjenta (<i>linagliptin</i>); Farxiga (<i>dapagliflozin</i>); Invokana (<i>canagliflozin</i>) ¹ ; Jardiance (<i>empagliflozin</i>); Tanzeum (<i>albiglutide</i>); Trulicity (<i>dulaglutide</i>)
A16 – Інші препарати, що діють на травний тракт та метаболізм	5	Myalept (<i>metreleptin for injection</i>) ^{1,3} ; Elelyso (<i>taliglucerase alfa</i>) ³ ; Vimizim (<i>elosulfase alfa</i>) ^{1,3} ; Gattex (<i>teduglutide</i>) ^{1,3} ; Cerdelga (<i>eliglustat</i>) ³
В Кров та кровотворні органи	6	
B01 – Антитромботичні засоби	4	Brilinta (<i>ticagrelor</i>); Zontivity (<i>vorapaxar</i>) ¹ ; Xarelto (<i>rivaroxaban</i>); Eliquis (<i>apixaban</i>)
B03 – Протианемічні препарати	1	Omontys (<i>peginesatide</i>)
B06 – Інші засоби, що діють на кров	1	Firazyf (<i>icatibant</i>) ^{1,3}

АТС група/підгрупа	Кількість	Торговельна (міжнародна непатентована) назва
С Серцево-судинна система	5	
C02 – Антигіпертензивні препарати	2	Opsumit (<i>macitentan</i>) ³ ; Adempas (<i>riociguat</i>)
C09 – Антагоністи ангіотензину II, прості	1	Edarbi (<i>azilsartan medoxomil</i>)
C10 – Препарати, що модифікують ліпіди, прості	2	Kynamro (<i>mipomersen sodium</i>) ^{1,3} ; Juxtapid (<i>lomitapide</i>) ^{1,3}
D – Препарати для дерматології	3	
D01 – Протигрибкові препарати для місцевого застосування	2	Luzu (<i>luliconazole</i>) Cream 1 %; Jublia (<i>efinaconazole</i>) 10 % topical gel
D06 – Антибіотики та хіміотерапевтичні засоби для застосування в дерматології	1	Picato (<i>ingenol mebutate</i>) gel ¹
G Сечостатева система та статеві гормони	4	
G03 – Статеві гормони та модулятори статевої системи	2	Duavee (<i>conjugated estrogens/bazedoxifene</i>); Ospheña (<i>ospemifene</i>)
G04 – Препарати для урології	2	Myrbetriq (<i>mirabegron</i>) ¹ ; Stendra (<i>avanafil</i>)
H Препарати гормонів системної дії, виключаючи статеві гормони	1	
H01 – Гормони гіпофізу та гіпоталамусу	1	Signifor (<i>pasireotide diaspertate</i>) ^{1,3}
J Препарати системної дії для лікування інфекційних захворювань	19	
J01 – Протимікробні засоби системної дії	6	Xtoro (<i>finafloxacin otic suspension</i>) 0,3 %; Zerbaxa (<i>ceftolozane + tazobactam</i>); Sivextro (<i>tedizolid phosphate</i>); Fulyzaq (<i>crofelemer</i>) ¹ ; Dalvance (<i>dalbavancin</i>); Orbactiv (<i>oritavancin</i>)
J02 – Протигрибкові засоби системної дії	1	Kerydin (<i>tavaborole</i>) ¹
J04 – Протитуберкульозні препарати	1	Sirturo (<i>bedaquiline</i>) ^{1,3}
J05 – Противірусні препарати системної дії	10	Rapivab (<i>peramivir injection</i>); Viekira Pak (<i>ombitasvir/paritaprevir/ritonavir tablets and dasabuvir tablets</i>) ^{1,2} ; Incivek (<i>telaprevir</i>); Victrelis (<i>boceprevir</i>) ¹ ; Olysio (<i>simeprevir</i>); Edurant (<i>rilpivirine</i>); Harvoni (<i>ledipasvir and sofosbuvir</i>) ^{1,2} ; Tivicay (<i>dolutegravir</i>); Sovaldi (<i>sofosbuvir</i>) ^{1,2} ; Stribild (<i>elvitegravir, cobicistat, emtricitabine, tenofovir, disoproxil fumarate</i>)
J06 – Імунні сироватки та імуноглобуліни	1	raxibacumab ^{1,3}

АТС група/підгрупа	Кіль- кість	Торговельна (міжнародна непатентована) назва
L Антинеопластичні та іму- номодулюючі засоби	45	
L01 – Антинеопластичні засоби	34	Beleodaq (<i>belinostat</i>) ³ ; Cyramza (<i>ramucirumab</i>) ³ ; Yervoy (<i>ipilimumab</i>) ^{1,3} ; Adcetris (<i>brentuximab vedotin</i>) ^{1,3} ; Perjeta (<i>pertuzumab</i>); Kadcyla (<i>ado-trastuzumab emtansine</i>) ¹ ; Gazyva (<i>obinutuzumab</i>) ^{2,3} ; Opdivo (<i>nivolumab</i>) ^{2,3} ; Keytruda (<i>pembrolizumab</i>) ^{1,2,3} ; Blincyto (<i>blinatumomab</i>) ^{1,2,3} ; Caprelsa (<i>Vandetanib</i>) ³ ; Gilotrif (<i>afatinib</i>) ³ ; Bosulif (<i>bosutinib</i>) ³ ; Zelboraf (<i>vemurafenib</i>) ^{1,3} ; Xalkori (<i>crizotinib</i>) ^{1,3} ; Inlyta (<i>axitinib</i>); Jakafi (<i>ruxolitinib</i>) ^{1,3} ; Stivarga (<i>regorafenib</i>); Tafinlar (<i>dabrafenib</i>) ³ ; Iclusig (<i>ponatinib</i>) ³ ; Mekinist (<i>trametinib</i>) ^{1,3} ; Cometriq (<i>cabozantinib</i>) ^{1,3} ; Imbruvica (<i>ibrutinib</i>) ^{1,2,3} ; Zykadia (<i>ceritinib</i>) ^{1,2,3} ; Ofev (<i>nintedanib</i>) ^{1,2,3} ; Erwinaze (asparaginase <i>Erwinia chrysanthemi</i>) ³ ; Impavido (<i>miltefosine</i>) ^{1,3} ; Synribo (<i>omacetaxine mepesuccinate</i>) ^{1,3} ; Erivedge (<i>vismodegib</i>) ¹ ; Eylea (<i>aflibercept</i>); Zaltrap (<i>ziv-aflibercept</i>); Kyprolis (<i>carfilzomib</i>) ³ ; Lynparza (<i>olaparib</i>) ^{1,3} ; Zydelig (<i>idelalisib</i>) ^{1,2,3}
L02 – Засоби для ендокринної терапії	2	Xtandi (<i>enzalutamide</i>); Zytiga (<i>abiraterone acetate</i>) ¹
L03 – Імуномодулюючі засоби	2	Neutroval (<i>tbo-filgrastim</i>); Plegridy (<i>peginterferon beta- 1a</i>)
L04 – Імуносупресанти	9	Benlysta (<i>belimumab</i>) ¹ ; Nulojix (<i>belatacept</i>) ^{1,3} ; Xeljanz (<i>tofacitinib</i>); Aubagio (<i>teriflunomide</i>) ¹ ; Otezla (<i>apremilast</i>) ¹ ; Entyvio (<i>vedolizumab</i>); Sylvant (<i>siltuximab</i>) ^{1,3} ; Esbriet (<i>pirfenidone</i>) ^{1,2,3} ; Pomalyst (<i>pomalidomide</i>) ³
M Кістково-м'язова система	2	
M05 – Препарати для лікування хвороб кісток	1	Xgeva (<i>denosumab</i>)
M09 – Інші препарати для лікування порушень кістково-м'язової системи	1	Xiaflex (<i>collagenase clostridium histolyticum</i>)
N Нервова система	11	
N03 – Протиепілептичні препарати	4	Aptiom (<i>eslicarbazepine acetate</i>); Horizant (<i>gabapentin enacarbil</i>); Potiga (<i>ezogabine</i>) ¹ ; Fycompa (<i>perampanel</i>) ¹
N05 – Психолептики	3	Onfi (<i>clobazam</i>) ³ ; Belsomra (<i>suvorexant</i>) ¹ ; Hetlioz (<i>tasimelteon</i>) ³
N06 – Антидепресанти	3	Viibryd (<i>vilazodone hydrochloride</i>); Brintellix (<i>vortioxetine</i>); Tecfidera (<i>dimethyl fumarate</i>) ¹
N07 – Інші препарати, що діють на нервову систему	1	Northera (<i>droxidopa</i>) ^{1,3}

АТС група/підгрупа	Кількість	Торговельна (міжнародна непатентована) назва
Р Протипаразитарні засоби, інсектициди та репеленти	1	
P03A – Засоби проти ектопаразитів та корости	1	Natroba (<i>spinosad</i>)
Р Дихальна система	7	
R03 – Протиастматичні засоби	5	Arcapta (<i>indacaterol maleate inhalation powder</i>); Striverdi Respimat (<i>olodaterol</i>); Breo Ellipta (<i>fluticasone furoate and vilanterol inhalation powder</i>); Tudorza Pressair (<i>aclidinium bromide inhalation powder</i>); Daliresp (<i>roflumilast</i>) ¹
R07 – Інші засоби, що діють на дихальну систему	2	Surfaxin (<i>lucinactant</i>); Kalydeco (<i>ivacaftor</i>) ^{1,3}
S Органи відчуття	2	
S01 – Офтальмологічні засоби	2	Zioptan (<i>tafluprost ophthalmic solution</i>); Jetrea (<i>ocriplasmin</i>) ¹
V Різні	12	
V03 – Усі інші лікарські засоби	2	Ferriprox (<i>deferiprone</i>) ³ ; Voraxaze (<i>glucarpidase</i>) ^{1,3}
V08 – Контрастні засоби	3	Dotarem (<i>gadoterate meglumine</i>); Gadavist (<i>Gadobutrol</i>); Lumason (<i>sulfur hexafluoride lipid-type A microspheres</i>)
V09 – Діагностичні радіофармацевтичні препарати	6	choline C-111; Datscan (<i>ioflupane (¹²³I)</i>); Vizamyl (<i>Flutemetamol (¹⁸F)</i>); Amyvid (<i>Florbetapir ¹⁸F Injection</i>) ¹ ; Neuraceq (<i>Florbetaben (¹⁸F)</i>); Lymphoseek (<i>Technetium (^{99m}Tc) tilmanocept</i>)
V10 – Терапевтичні радіофармацевтичні препарати	1	Xofigo (<i>radium Ra ²²³ dichloride</i>) ¹

Примітка. ¹Перший у класі. ²прорив. ³«ліки-сироти».

27 – «ліки-сироти». Іншими широко представленими групами є препарати для лікування бактеріальних та вірусних інфекцій системної та місцевої дії (16 %) та препарати, що діють на травний тракт та метаболізм (12 %) (табл. 1). Так, у 2011–2014 роках нові засоби лікування отримали, зокрема, хворі на цукровий діабет типу 2 (Jardiance, Tradjenta, Farxiga, Trulicity, Tanzeum); гепатит С (Incivek, Viekira Pak, Victrelis, Olysio, Harvoni, Sovaldi); HIV-1 (Stribild, Edurant, Tivicay); рак легень (Xalkori, Kadcyла, Perjeta, Gilotrif, Zykadia); різні типи меланоми (Tafinlar, Yervoy, Zelboraf, Opdivo,

Keytruda, Mekinist); рак простати (Xtandi, Xofigo, Zytiga); різні типи лейкозів та лімфом (Iclusig, Synribo, Bosulif; Erwinaze, Imbruvica, Zydelig, Blincyto, Gazyva, Adcetris), множинну мієлому (Pomalyst, Kyprolis); хронічні обструктивні захворювання легень (Daliresp, Striverdi Respimat, Tudorza Pressair, Breo Ellipta, Anoro Elipta, Arcapta) та інші. Для низки з цих препаратів прогнозні обсяги продажу (2019 р.) становитимуть понад 1 млрд доларів США (табл. 2).

Протягом періоду, що аналізується, інноваційні продукти вивели на ринок 80 компаній (їх підрозділів), з яких

21 (26 %) – по 2 та більше: 7 – GlaxoSmithKline, по 6 – Bristol-Myers Squibb та Pfizer, по 5 – Bayer та Boehringer Ingelheim, по 4 – AstraZeneca, Genentech, Gilead, Janssen, Forest Laboratories, по 3 – Novartis, Takeda та Valeant Pharmaceuticals, по 2 – Biogen Idec, Celgene, Genzyme, Sanofi, Teva Pharmaceuticals, Vertex Pharmaceuticals, Cubist Pharmaceuticals та Eli Lilly. Саме на ці компанії припадає більшість продуктів зі статусом «перші в класі»/«прорив» (59 %).

Більш докладна інформація щодо інноваційних продуктів, кваліфікованих як «перший в класі» та/або «прорив» (за винятком «ліків-сиріт», яким буде присвячено наступну публікацію) узагальнена в таблиці 3. Важливо, що

майже 64 % з них (18 з 28) станом на травень 2015 року отримали також ліцензію на маркетинг у ЄС за централізованою процедурою (табл. 3).

Таким чином, інноваційна активність у фармацевтичному секторі поступово відновлюється й у 2014 році майже вийшла на рівень 1995 року. Зростає не тільки кількість, а й значущість інновацій як у сфері діагностики, так і лікування серйозних захворювань, що ведуть до інвалідизації та смертності. Використання FDA різноманітних програм прискорення розробки та схвалення інноваційних лікарських засобів забезпечує ранній доступ пацієнтів до нового лікування (цей досвід має бути започаткований і в Україні).

Таблиця 2

Прогнозні обсяги продажу інноваційних лікарських засобів [10]

Тип заяви	Назва (активні інгредієнти)	Показання для застосування	Компанія	Обсяг продажу, млрд дол. США, 2019 р.
NDA	Harvoni (ledipasvir and sofosbuvir)	Хронічний вірусний гепатит С, генотип I	Gilead	12.040
NDA	Sovaldi (sofosbuvir)	Вірусний гепатит С	Gilead	7.518
BLA	Opdivo (nivolumab)	Неоперабельна або метастатична меланома	Bristol-Myers Squibb	5.700
BLA	Kadcyla (ado-trastuzumab emtansine)	HER2 позитивний рак легень	Roche	4.100
BLA	Keytruda (pembrolizumab)	Поширена або неоперабельна меланома	Merck	3.292
NDA	Viekira Pak (veruprevir, ritonavir, ombitsvir and dasabuvir)	Вірусний гепатит С	AbbVie	2.500
NDA	Farxiga (dapagliflozin)	Діабет типу II у дорослих	AstraZeneca	1.459
NDA	Anoro Ellipta (umeclidinium/vilanterol)	Хронічні обструктивні захворювання легень	Glaxo-SmithKline/Theravance's	1.176
NDA	Zydelig (idelalisib)	Рецидивуюча хронічна лімфоцитарна лейкемія, рецидивуюча фолікулярна неходжкінська В-клітинна лімфома, дрібноклітинна лімфоцитарна лімфома	Gilead	1.041

Лікарські засоби (крім «ліків-сиріт»), які класифіковані FDA як «перші у класі»/«прорив»

Торговельна (міжнародна непатентована) назва	АТС код [11]	Компанія розробник	Показання для застосування [12]	Механізм дії [12]	Схвалення у США/ Старт маркетингу [12]	Схвалення у ЕС [13]
Amyvid ¹ (florbetapir ¹⁸ F)	V09AX05	Avid Radiopharmaceuticals	Радіоактивний діагностичний агент для позитронно-емісійної томографії (ПЕТ) головного мозку	Зв'язується з відкладеннями амілоїду в головному мозку; ПЕТ-зображення використовуються для оцінки щільності амілоїдної бляшки	06.04.2012/ 01.06.2012	EU/1/12/805
Aubagio ¹ (teriflunomide)	L04AA31	Sanofi Winthrop Industrie	Розсіяний склероз	Інгібітор дигідрооротат дегідрогенази (DHODH). Активний метаболіт лефлуноміду	12.09.2012/ 12.05.2013	EU/1/13/838
Belsomra ¹ (suvorexant)	N05C	Merck	Безсоння	Антагоніст орексинових рецепторів	13.08.2014/ 29.08.2014	
Belviq ¹ (lorcaserin hydrochloride)	A08AA11	Arena Pharmaceuticals	Контроль ваги	Антагоніст 5HT2C серотонінових рецепторів	27.06.2012/ 27.06.2012	
Benlysta ¹ (belimumab)	L04AA26	Human Genome Sciences	Системний червоний вовчак	Гуманізоване моноклональне антитіло класу IgG ₁ , що специфічно зв'язується з розчинним стимулятором В-лімфоцитів (BLyS) людини і пригнічує його біологічну активність. Пригнічує життєздатність В-лімфоцитів, у тому числі аутореактивних клонів, і знижує диференціювання В-лімфоцитів у плазматичні клітини, що виробляють імуноглобулін	10.03.2011/ 10.03.2011	EU/1/11/700
Choline ¹¹ C ¹ (choline ¹¹ C)	V09	Mayo Clinic PET Radiochem. Facility	ПЕТ-діагностика рецидиву раку простати	Радіоактивний аналог холіну – молекули-попередника в біосинтезі фосфоліпідів клітинних мембран	12.09.2012/ 12.09.2012	

Торговельна (міжнародна непатентована) назва	АТС код [11]	Компанія розробник	Показання для застосування [12]	Механізм дії [12]	Схвалення у США/ Старт маркетингу [12]	Схвалення у ЕС [13]
Daliresp ¹ (roflumilast)	R03DX07	Forest Labs, Inc	Хронічні обструктивні захворювання легень	Рофлуміласт та його активний метаболіт рофлуміласт N-оксид є селективними інгібіторами фосфодієстерази 4 (PDE4)	28.02.2011/ 28.02.2011	EU/1/11/668
Erivedge ¹ (vismodegib)	L01XX43	Genentech	Базальноклітинна карцинома	Інгібітор Hedgehog (Hh) сигнального провідного шляху	30.01.2012/ 30.012012	EU/1/13/848
Fulyzaq ¹ (crofelemer)	A07	Salix Pharmaceuticals	Неінфекційна діарея у дорослих з HIV/AIDS	Антагоніст хлорних каналів. Пригнічує трансмембранну провідність CFTR хлорних каналів (CFTR Cl) та кальцій-активованих хлорних каналів (CACCC) у просвіті мембрани ентероцитів	31.12.2012/ 31.12.012	
Fycompa ¹ (perampanel)	N03AX22	Eisai	Парціальна епілепсія з або без вторинних генералізованих судом	Неконкурентний антагоніст AMPA глутаматних рецепторів на постсинаптичних нейронах	22.10.2012/ 22.10.2012	EU/1/12/776
Harvoni ^{1,2} (ledipasvir and sofosbuvir)	J05AX65	Gilead	Вірусний гепатит C	Фіксована комбінація ледипасвіра – потужного інгібітора HCV NS5A – вірусного фосфопротеїну, що відіграє важливу роль у реплікації, зборці та виділенні вірусу, та софосбувіра – нуклеотидного інгібітора NS5B-полімерази вірусу гепатиту C (ключового фермента реплікації вірусу)	10.10.2014/ 10.10.2014	EU/1/14/958
Invokana ¹ (canagliflozin)	A10BX11	Janssen Pharmaceuticals	Цукровий діабет типу 2	Селективний інгібітор натрій-глюкозного котранспортеру типу 2 (SGLT2)	29.03.2013/ 29.03.2013	EU/1/13/884

Торговельна (міжнародна непатентована) назва	АТС код [11]	Компанія розробник	Показання для застосування [12]	Механізм дії [12]	Схвалення у США/ Старт маркетингу [12]	Схвалення у ЕС [13]
Jetrea ¹ (ocriplasmin)	S01XA22	Thrombogenics	Симптоматична вітреомакулярна адгезія (VMA)	Інгібітор антиплазміну. Має протеолітичні властивості щодо білкових компонентів склоподібного тіла та вітреоретинального інтерфейсу, розчинює білкову матрицю, що відповідає за вітреомакулярну адгезію	17.10.2012/ 31.10.2012	EU/1/13/819
Kadcyla ¹ (ado- trastuzumab emtansine)	L01XC14	Genentech	HER2-позитивний метастатичний рак легень	Моноклональне антитіло – HER2-націлений кон'югат «антитіло-лікарський засіб». Після зв'язування з субдоменом IV HER2-рецептора піддається рецептор-опосередкованій інтерналізації та наступний лізосомальній деградації внаслідок внутрішньоклітинного вивільнення DM1-вміщуючих цитотоксичних катаболітів. Зв'язування DM1 з тубуліном порушує мережі мікротрубочок у клітині, що призводить до зупинки клітинного циклу та апоптозу	22.02.2013/ 29.03.2013	EU/1/13/885
Kerydin ¹ (tavaborole)	D01AE	Anacor	Онїхомікоз нігтів на ногах	Похідне оксборолу. Пригнічує синтез білка в грибах шляхом інгібування аміноацил-Т-РНК-синтази	07.07.2014/ 07.07.2014	
Linzess ¹ (linaclotide)	A06AX04	Forest Labs and Ironwood Pharmaceuticals	Хронічний ідіопатичний закреп, синдром подроздненого кишеч- ника з закрепамми (IBS- C) у дорослих	Стимулятор гуанілатциклази C (GC-C)	30.08.2012/ 30.08.2012	

Продовження табл. 3

Торговельна (міжнародна непатентована) назва	АТС код [11]	Компанія розробник	Показання для застосування [12]	Механізм дії [12]	Схвалення у США/ Старт маркетингу [12]	Схвалення у ЕС [13]
Mekinist ¹ (trametinib)	L01XE25	GlaxoSmithKline	Неоперабельна метастатична меланома з мутаціями BRAF V600E або V600K	Оральний біодоступний інгібітор мітоген-активуючої протеїнкінази (МЕК). Специфічно зв'язується з MEK-1 та -2 тронінін/тирозинкіназами різних типів ракових клітин, що відіграють ключову роль в активації RAS/RAF/MEK/ERK сигнального шляху регулювання росту клітин	29.05.2013/ 17.06.2013	EU/1/14/931
Myrbetriq ¹ (mirabegron)	G04BD12	Astellas Pharma US Inc	Гіперактивний сечовий міхур	Агоніст beta-3 адренорецепторів	28.06.2012/ 28.06.2012	
Otezla ¹ (apremilast)	L04AA32	Celgene	Бляшкоподібний псоріаз середнього та важкого ступеня, активний псоріатичний артрит у дорослих	Інгібітор фосфодіестерази 4 (PDE4), підвищує рівень внутрішньоклітинного cAMP, пригнічує декілька прозапальних медіаторів, включаючи TNF-альфа, інтерлейкіни 6, 17 та 23, а також інтерферон-γ	21.03.2014/ 01.04.2014	EU/1/14/981
Picato ¹ (ingenol mebutate)	D06BX02	LEO Pharma	Активний кератоз	Інгібітор/стимулятор протеїнкінази C. У моделях <i>in vivo</i> та <i>in vitro</i> встановлений подвійний механізм дії: 1) індукція місцевого ушкодження та загибелі клітин та 2) активація запальної реакції, що призводить до інфільтрації нейтрофілів та інших імунокомпетентних клітин	23.01.2012/ 23.01.2012	EU/1/12/796

Торговельна (міжнародна непатентована) назва	АТС код [11]	Компанія розробник	Показання для застосування [12]	Механізм дії [12]	Схвалення у США/ Старт маркетингу [12]	Схвалення у ЕС [13]
Potiga ¹ (ezogabine)	N03AX21	Valeant Pharmaceuticals	Парціальна епілепсія в дорослих	Активатор калієвих каналів у головному мозку. Механізм дії до кінця не вивчений. За умов <i>in vitro</i> підвищує трансмембранні струми калію в іонних каналах родини KCNQ, стабілізує мембранний потенціал спокою та зменшує збудливість головного мозку, підвищує ГАМК-опосередковані струми	10.06.2011/ 19.04.2012	
Sovaldi ^{1,2} (sofosbuvir)	J05AX15	Gilead Sciences	Вірусний гепатит С	Аналог урацилового нуклеотиду. Інгібітор HCV NS5B РНК-залежної РНК-полімерази, що необхідна для реплікації вірусу. Являє собою проліки нуклеотидної природи, що піддаються внутрішньоклітинному метаболізму з утворенням фармакологічно активного аналогового уридинтрифосфату (GS-461203), який може бути включений до HCV NS5B РНК-залежної РНК-полімерази та викликати обрив ланцюга	06.12.2013/ 06.12.2013	EU/1/13/894
Tecfidera ¹ (dimethyl- fumarate)	N07XX09	Biogen Idec	Рецидивуючий розсіяний склероз	Диметилфумарат (DMF) – імуномодулятор для перорального застосування. Механізм дії при розсіяному склерозі невідомий. DMF та його метаболіт – монометилфумарат (MMF) – можуть активувати Nrf2-фактор. У дослідженнях <i>in vitro</i> діє як агоніст рецептора нікотинової кислоти	27.03.2013/ 27.03.2013	EU/1/13/837

Торговельна (міжнародна непатентована) назва	АТС код [11]	Компанія розробник	Показання для застосування [12]	Механізм дії [12]	Схвалення у США/ Старт маркетингу [12]	Схвалення у ЕС [13]
Victrelis ¹ (bocoprevir)	J05AE12	Merck	Хронічний гепатит С генотипу 1	Пептидоміметик, інгібітор NS3 та NS4A протеази HCV	13.05.2011/ 13.05.2011	EU/1/11/704
Viekira Pak ^{1,2} (ombitasvir/ paritaprevir/ ritonavir and dasabuvir)	J05AX66	Abbvie	Хронічний гепатит С генотипу 1	Комбі-упаковка: омбітасвір/ парите- правір/ритонавір (таблетки) + даса- бувір (таблетки). Включає компонен- ти з різними механізмами дії на вірус гепатиту С: інгібітор NS5A омбітас- вір, інгібітор протеази NS3/4A парі- теправір, пептидний інгібітор HIV-1 та HIV-2 протеази ритонавір та нуну- клеозидний інгібітор полімерази NS5B дасабувір	19.12.2014/ 19.12.2014	
Xofigo ¹ (radium (²²³ Ra) dichloride)	V10XX03	Bayer Healthcare Pharmaceuticals	Рак простати з мета- стазами в кістки	Активний фрагмент являє собою ізо- топ радію (у вигляді дихлориду ²²³ Ra), що випромінює альфа-част- ки, які імітують кальцій і утворюють комплекси з гідроксипатитом кісток в області метастазів	15.05.2013/ 20.05.2013	EU/1/13/873
Zontivity ¹ (vorapaxar)	B01AC26	Merck	Зниження ризику сер- цевих нападів та інсультів у пацієнтів груп високого ризику	Селективний оборотний антагоніст протеаза-активувемих рецепторів типу 1 (PAR-1). Тривалий період напіввиведення перетворює ефект у необоротний	08.05.2014/ 08.05.2014	EU/1/14/976
Zytiga ¹ (abiraterone acetate)	L02BX03	Centocor Ortho Biotech	Рак простати	Інгібітор 17α-гидроксилази/C17-20 лази (P450c17)	28.04.2011/ 28.04.2011	

Примітка. ¹Перший у класі, ²прорив.

1. The Novel New Drugs of 2011 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/UCM293663.pdf>
2. Novel New Drugs Summary [Електронний ресурс]. – 2012. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/UCM337830.pdf>
3. Novel New Drugs 2013 Summary [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/UCM381803.pdf>
4. Novel New Drugs 2014 Summary [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/UCM430299.pdf>
5. Режим доступу: <http://www.fda.gov/forpatients/approvals/fast/ucm405399.htm>
6. Режим доступу: <http://www.fda.gov/ForPatients/Approvals/Fast/ucm405397.htm>
7. Режим доступу: <http://www.fda.gov/ForPatients/Approvals/Fast/ucm405447.htm>
8. Режим доступу: <http://www.fda.gov/ForPatients/Approvals/Fast/ucm405405.htm>
9. GAIN: How a New Law is Stimulating the Development of Antibiotics [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/issue-briefs/2013/11/07/gain-how-a-new-law-is-stimulating-the-development-of-antibiotics>
10. Режим доступу: <http://www.bloomberg.com/.../>
11. WHOCC – ATC/DDD Index [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.whooc.no/atc_ddd_index/
12. Режим доступу: <http://www.drugs.com>
13. Community register of medicinal products for human use [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/html/h901.htm>

Т. А. Бухтіарова

Інноваційні лікарські засоби, схвалені FDA протягом 2011–2014 років (аналітичний огляд)

У статті наведено огляд нових препаратів (нових молекулярних субстанцій), схвалених FDA протягом 2011–2014 років. Звернемо увагу на використання FDA програм прискорення розробки та схвалення інноваційних лікарських засобів.

Ключові слова: нові молекулярні субстанції, FDA

Т. А. Бухтиарова

Иновационные лекарственные средства, утвержденные FDA в 2011–2014 годах (аналитический обзор)

В статье представлен обзор новых препаратов (новых молекулярных субстанций), утвержденный FDA в 2011–2014 годы. Обращено внимание на использование FDA программ ускоренной разработки и утверждения инновационных лекарственных средств.

Ключевые слова: новые молекулярные субстанции, FDA

T. A. Bukhtiarova

Innovative drugs, approval FDA in 2011–2014 (analytical overview)

The article provides an overview of new drugs (new molecular substances) approved by the FDA for 2011–2014. Attention is paid to the programs used by FDA for accelerated development and approval of innovative drugs.

Key words: new molecular entity, FDA

Надійшла: 15.07.2015 р.

Контактна особа: Бухтіарова Т. А., член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Єжена Потьє, м. Київ, 03680. Тел. +38 0 44 456 42 56. Електронна пошта: onmi@i.ua

Н. А. Мохорт, И. В. Геращенко, Т. П. Притула

Фармакологические эффекты токолитиков при преждевременных родах

ГУ «Институт фармакологии и токсикологии
Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Ключевые слова: родовая деятельность, токолитические средства, преждевременные роды, окситоцин, миометрий

Лечение преждевременных родов сегодня вызывает большое количество дискуссионных вопросов, для которых характерно постоянное определение приоритетов – спасти жизнь или не навредить здоровью.

Токолитическая терапия, используемая ныне клиницистами, представлена далеко небезопасными и не всегда эффективными препаратами, нежелательные последствия использования которых касаются в равной мере как матери, так и плода. В этой связи актуальным остается поиск новых лекарственных средств среди производных разных химических классов, в частности, гетероциклических органических соединений.

Роды – это процесс с участием центральной нервной системы (ЦНС), эндокринной, иммунной систем и органа-мишени – матки, с размещенным в ней плодом.

Многочисленные клинические наблюдения позволили говорить о взаимосвязи течения беременности и родов с функциональным состоянием ЦНС [1, 2]. В процессе гестации у женщин формируется доминанта беременности в одном из отделов ЦНС. С приближением родов доминанта беременности трансформируется в родовую доминанту, организм женщины готовится к родам произвольно, а роды наступают в срок.

Ныне существует мнение, что развитие родовой деятельности, а именно инициация родов, в большей степени зависит от простагландинов и окситоцина, а поддержание родовой деятельности и экспульсию (изгнание) плода обеспечивают утеротоники и проста-

гландины, которые синтезируются в организме матери [3–7].

В возникновении родовой деятельности возрастание концентрации простагландинов (ПГ) в амниотической (околоплодной) жидкости играет важную роль [2, 8–10]. Субстратом для образования простагландинов являются свободные полиненасыщенные жирные кислоты и фосфолипиды мембран клеток. По химическому строению ПГ разделяют на 4 основных класса: А, В, Е, F, самыми активными из которых являются два последних. Причиной значительного увеличения продукции ПГЕ и ПГF является окситоцин.

Простагландины класса Е представлены видами E2 та E2 $_{\alpha}$. Простагландин E2 синтезируется в беременной матке в плодных (амнион и хорион) и децидуальной оболочках, а также в шейке матки, в то время как простагландин E2 $_{\alpha}$ – только в децидуа и шейке матки [11, 12].

Среди класса F простагландинов также выделяют два основных вида: F2 $_{\alpha}$ та F2. Простагландины F2 влияют преимущественно на созревание шейки матки путем увеличения синтеза коллагеназ, приводящее к смягчению и укорочению шейки матки, исключая тем самым синхронные сокращения матки и релаксацию циркулярного слоя миометрия. Параллельно с этим активируется синтез простагландинов F2 $_{\alpha}$, стимулирующих сокращения тела матки в активную родовую фазу [2].

В миометрии человека различают три типа рецепторов к простагландинам: IR (ПГI2), FR (ПГF2 $_{\alpha}$) и ER (ПГЕ2).

ПГЕ2 проявляет антиагрегатное действие, улучшает кровоток и микроциркуляцию. ПГF2 $_{\alpha}$, наоборот, проявляет сосудосуживающее действие и усиливает агрегацию форменных элементов

крови, что важно для уменьшения кровопотери в родах. Важно подчеркнуть, что амниотическая жидкость способствует сохранению простагландинов [13], увеличивая время полураспада ПГЕ_{2α} и F₂ от 4 до 6 часов [14], в то время как в крови указанный период длится 6–8 минут.

Цитокиновый профиль и, следовательно, иммунный ответ – сложный процесс, от которого зависят особенности течения беременности и родов. Предположение о том, что цитокины могут играть роль промежуточного модулятора в развитии родовой деятельности было, доказано в опытах Р. Bennet, D. Henderson, G. Moore. Ученые показали, что экспрессия гена циклооксигеназы-2 (фермент, который участвует в синтезе простагландинов) в децидуе и плодных мембранах существенно повышается во время родов [12, 15].

В углубленных исследованиях *in vivo* [16, 17] и *in vitro* [18] была установлена связь между началом родов (как своевременных, так и преждевременных) и увеличением синтеза некоторых цитокинов в тканях фетоплацентарного комплекса. Из всего разнообразия цитокинов, которые тоже принимают участие в родах, важно выделить интерлейкины: 1, 6, 8 (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8) и фактор некроза опухоли (ФНО-α). По данным литературы во время родового акта ФНО-α продуцируется в основном клетками амниона, ИЛ-6 и ИЛ-8 – амнионом и хорионом [19], а ИЛ-1 – только хорионом [20].

Постепенное увеличение содержания ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6 и ИЛ-8 в нижнем сегменте матки с приближением срока родов тоже может свидетельствовать о возможной активации родовой деятельности цитокинами [21–23].

Значение окситоцина в развитии родовой деятельности разные исследователи видят по-разному. Исследования [5] подтвердили, что фетальный окситоцин (синтезируется в клетках гипоталамуса и концентрируется в задней доле гипофиза) стимулирует развитие родовой деятельности. В тоже время, другие исследователи считают, что основными факторами развития родовой деятельности являются простаглан-

дины, а действие окситоцина реализуется в процессе родов, главным образом, в активную фазу родов [24]. Еще одна точка зрения: окситоцин действует не только на миометрий как утеротоник, но и на децидуальную ткань, стимулируя продукцию простагландина F_{2α}: окситоцин через свои рецепторы повышает активность ПГ-синтазы в хориондецидуальной оболочке [10].

В механизме действия окситоцина много составляющих, к которым относятся: угнетение активности холинэстеразы, изменение электролитного баланса в клетках, стимуляцию α- и блокаду β-адренорецепторов матки [25].

В биохимическом механизме влияния окситоцина на клетки миометрия большое значение уделяется гомеостазу кальция. С. Г. Шлык выделяет следующие этапы его действия [26]:

1. Связывание окситоцина с окситоциновыми рецепторами способствует поступлению Ca²⁺ в клетку из внеклеточного пространства путем активации потенциалзависимых кальциевых каналов, а, с другой стороны, одновременно приводит к активации фосфолипазы С и синтезу инозитол-1,4,5-трифосфата (IP₃).
2. IP₃ связывается с рецептором инозитол-1,4,5-трифосфата на поверхности саркоплазматического ретикулума (СР), а это, в свою очередь, приводит к освобождению Ca²⁺ из СР.
3. Снижение концентрации ионов Ca²⁺ в СР активирует TrpC-каналы, которые расположены на поверхности плазматической мембраны (ПМ), для вхождения внеклеточного Ca²⁺ в пространство клетки.
4. На активацию TrpC-каналов, независимо от опустошения СР, также влияет диацилглицерол, который катализируется фосфолипазой С.
5. Увеличение концентрации Ca²⁺ в матриксе митохондрий происходит за счет повышения концентрации Ca²⁺ в цитоплазме клетки.
6. Частичная ингибция кальциевой помпы ПМ и СР, которая приводит к уменьшению выброса Ca²⁺ в межклеточное пространство и возвращению в СР.

Результатом указанных изменений в клетке является сокращение гладких мышц матки.

На 36–37 неделях беременности увеличивается чувствительность миометрии не только к окситоцину, но и к серотонину, гистамину и катехоламинам. Основным источником гистамина и серотонина являются мастоциты. С течением беременности количество серотонина увеличивается, достигая максимальной концентрации перед родами, а это свидетельствует о его непосредственном участии в процессе родов [27, 28].

Участие мастоцитов в регуляции сократительной деятельности матки подтверждено в эксперименте на животных. Мастоциты матки имеют уникальные фенотипичные и функциональные характеристики. Так, под действием эстрогенов они способны выделять гистамин [29], который усиливает сократительную активность миометрии в конце беременности и при родах, при этом чувствительность наибольшая – при родах. Гистамин, аналогично окситоцину и серотонину, повышает базальный тонус, частоту и амплитуду схваток, принимая участие в развитии и активации родовой деятельности [27].

Адренергическая система также участвует в регуляции сократительной деятельности матки, а именно: α -адренорецепторы стимулируют сокращение миометрии, а β -адренорецепторы ингибируют активность матки [30, 31].

Основные адренергические медиаторы – адреналин и норадреналин способны увеличивать частоту маточных сокращений, или, наоборот, вызывать угнетение родовой активности. Физиологический ответ на катехоламины осуществляется непосредственно за счет их влияния на адренорецепторы [3, 14].

Один из возможных путей реализации действия утеротоников (веществ, которые повышают сократительную активность матки) – вторичные посредники, а именно ионные каналы. Сокращение миометрии начинается с увеличения концентрации внутриклеточного ионизированного кальция, причем источником может быть как внутри-

клеточный, так и внеклеточный кальций или же их комбинация. В миометрии есть два вида потенциалзависимых кальциевых каналов: Т- и L- типа [32, 33]. Окситоцин повышает проницаемость поверхностной мембраны для ионов кальция через L-каналы [34]. Белки кальциевых каналов синтезируются и сохраняются в миометрии в больших количествах во время беременности. То есть, беременность сопровождается прогрессивным увеличением плотности кальциевых каналов и активацией натриевых каналов.

Роды начинаются, когда сокращения становятся синхронными и частыми, иначе говоря, для физиологического развития родовой деятельности необходима координация сокращений матки. Одним из таких механизмов симбиоза является синтез на плазматической мембране межклеточных контактов (МКК) [35].

Межклеточные контакты – это каналы, которые связывают клетки между собой путем проведения неорганических ионов и низкомолекулярных молекул, например, глюкозы [35]. Они построены из протеинов, а один из них – коннексин D43 образует в пространстве между мембранами клеток канал [36]. С увеличение срока гестации увеличивается и количество МКК.

Одновременность и синхронность частоты, продолжительности и амплитуды маточных сокращений зависят от частоты электрических разрядов, проведения потенциала действия в каждой клетке отдельно, а также совместно в миометрии. Именно поэтому распространение потенциала действия по типу ниспадающего градиента имеет фундаментальное значение в регуляции сократительной активности матки. Последовательность фаз сокращения и расслабления миометрии – это результат циклической де- и реполяризации мембран миоцитов [37].

Составу околоплодных вод отводится большое значение, поэтому изучение стероидного профиля амниотической жидкости, в частности, содержания фетального кортизола и других фетальных стероидов, позволило исследователям считать, что повышение их синтеза

может служить сигналом для развития родовой деятельности [13, 38].

У беременных первичные эстрогены (эстрадиол-17 β и эстрон) синтезируются в плаценте: их предшественник, прогестерон – в зародышевой зоне коры надпочечников, превращаясь вначале в дегидроэпиандростерона сульфат, а потом – в 16 оксидегидроэпиандростерона сульфат, который, поступая в плаценту, превращается в первичные эстрогены под влиянием сульфотаз и ароматаз.

Представитель первичных эстрогенов – эстриол у беременных синтезируется из эстрона в фетоплацентарной системе и печени [39]. Эстриол и эстрадиол у беременных и небеременных женщин имеют принципиально разное физиологическое значение. У небеременных эстриол – это продукт дезактивации эстрадиола, а у беременных – он основной продукт фетоплацентарного комплекса, который свидетельствует о функциональном состоянии плода.

Эстриол в процессе гестации выполняет функции антиэстрогена, блокируя эстрогеновые рецепторы и снижая влияние первичных эстрогенов на сократительную деятельность миометрия. В крови матери 90 % эстриола фетального происхождения [40]. Перед родами увеличивается влияние эстрадиола, который непосредственно влияет на активность и силу схваток. Доказательством этого механизма действия эстрогенов есть исследования М. Mazor и его коллег [41], которые определяли содержание эстрадиола в плазме крови женщин при своевременных или преждевременных родах. Уровень эстрадиола у женщин, родивших в период 32–36 недель гестации, был достоверно выше, чем при своевременных родах на фоне практически одинакового содержания прогестерона.

Клинически доказана значимость прогестерона в первом триместре беременности, а снижение его концентрации в крови матери может привести к угрозе или прерыванию беременности. Синтез прогестерона осуществляется в желтом теле яичников, но последние исследования утверждают, что уже начиная с шестой недели беременности

ткани эмбриона также продуцируют данный гормон [41–43].

Прогестерон – конечное звено плацентарного биосинтеза и распределяется следующим образом: 90 % поступает в кровотоки матери, а 10 % – в организм плода, где из него синтезируются фетальные кортикостероиды [43].

Именно комбинация 5 α - и 5 β -изомеров среди продуктов метаболизма прогестерона, по мнению Е. Baulieu [44], является эндогенным антигестагеном, который в достаточном количестве накапливается на последних сроках беременности и представляется пусковым механизмом начала родов. Поэтому в отдельных случаях причиной выкидышей или преждевременных родов может быть патологическое изменение метаболизма прогестерона.

Учитывая все вышеизложенное, можно утверждать, что механизм развития родовой активности зависит, в большей степени не от содержания эстрадиола и прогестерона в плазме периферической крови, а от чувствительности утеромиоцитов к половым стероидам и утеротропинам, то есть, от состояния рецепторного аппарата миометрия.

Рецепторы большинства биологически активных веществ, в том числе и половых стероидов, расположены в цитоплазматической мембране, в цитозоле и ядре клетки [45, 46]. Исследования молекулярных механизмов действия гормонов показали, что рецепторы половых стероидов взаимодействуют с эстрадиолом и прогестероном в цитозоле миоцитов и перемещают их в ядро клетки, откуда и генерируется гормональный сигнал и соответственно биохимический ответ клетки [45].

Эстрадиол активирует синтез собственных рецепторов и рецепторов прогестерона [39], в отличие от прогестерона, который угнетает синтез собственных рецепторов и проявляет функциональную антиэстрогенную активность путем уменьшения количества и торможения синтеза цитозольных эстрогеновых рецепторов и стимуляции локального метаболизма эстрадиола [45].

Половые стероиды неоднозначно влияют на плотность окситоциновых

рецепторов в миометрии: эстрогены ее повышают, а прогестерон блокирует синтез последних, понижая при этом их плотность. Вместе с тем, эстрадиол стимулирует синтез эндогенных простагландинов, а прогестерон повышает мембранный потенциал клетки, блокируя транспорт разных ионов и понижая тонус матки, амплитуду и частоту схваток [47].

Основным звеном в процессе преждевременных родов (ПР), по последним исследованиям, считаются Toll-подобные рецепторы, которые выступают в роли элемента, связывающего между собой врожденный и адаптивный иммунитет. Доказано, что экспрессия генов TLR-2 и TLR-4, которые понижают риск ПР, возрастает непосредственно в слизистой оболочке цервикального канала и в плаценте именно в момент родов [50]. Параллельно с активацией экспрессии вышеупомянутых генов происходит усиление экспрессии цитокинов, а именно интерлейкина-1 (IL-1) и α -фактора некроза опухоли (ФНО α). Они провоцируют потерю тонуса и укорочение шейки матки. Данный процесс может быть осуществлен двумя путями (рис. 1) [51, 52].

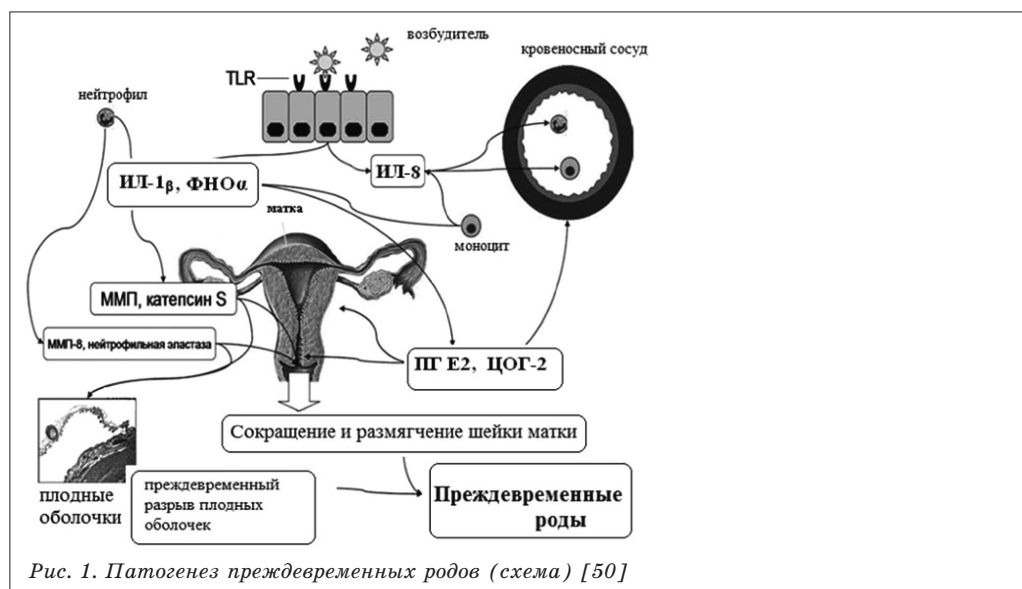
Интерлейкин-1 β стимулирует продукцию некоторыми клетками ЦОГ-2 и простагландина E2 (ПГ E2), которые действуют на гладкомышечные клетки

шейки и тела матки. Кроме этого, интерлейкин-8 (IL-8) является хемотактантом для нейтрофилов, которые мигрируют к шейке матки и продуцируют ферменты-разрушители межклеточного матрикса – нейтрофильную коллагеназу и эластазу.

Так, в работе К. М. Waldorf Adams и соавт. [53] на макаках-резус было установлено, что внутриматочное введение липополисахаридов приводило к повышению в амниотической жидкости уровня IL-8, ФНО α , ПГ E2 и ПГ F2 α и появлению маточных сокращений. При этом, если за 1 час до введения липополисахаридов вводили антагонист TLR-4, то уровень цитокинов и частота маточных сокращений были значительно ниже.

Для лечения преждевременных родов клиницисты прибегают к токолитической терапии. Среди токолитических препаратов, которые используются в клинической практике, можно выделить следующие группы: нестероидные противовоспалительные средства (индометацин), блокаторы окситоциновых рецепторов (атозибан), блокаторы кальциевых каналов (нифедипин), препараты магния (магний сульфат, магне-В $_6$), β_2 -адреномиметики (тербуталин, гексопреналин).

Длительность лечения ПР устанавливается индивидуально в зависимости от симптомов, срока гестации и типа



родов (по клиническим признакам их разделяют на угрожающие, начинающиеся и уже начатые). Главная цель лечения преследует предупреждение или задержку родовой активности, что позволяет осуществить транспортировку беременной к пренатальному центру и применить мероприятия в соответствии с клиническим протоколом акушерской помощи.

В последние годы встал вопрос о рациональности применения токолитиков для предупреждения или задержки родовой активности. Мнения исследователей различны: от факта пролонгации беременности и отсутствия влияния на перинатальную смертность до ее увеличения и заболеваемости беременных [54]. Так, анализ данных об использовании токолитических препаратов, проведенный N. S. Hyagriv и соавт., показал в целом их безопасность в качестве альтернативы [48]. Причины развития родовой деятельности сегодня изучены недостаточно, именно поэтому вопрос, почему возникают преждевременные роды или же задержка родов в соответствии с установленным сроком гестации, имеет неоднозначный ответ.

Знание точек влияния на клетку миометрия (рис. 2) дает возможность выбирать прогнозируемую биологическую активность синтезированных соединений, что значительно облегчает

путь поиска новых лекарственных препаратов [48]. Использование методов *in silico* дает возможность при таких условиях конструировать необходимый дизайн структуры молекулы, который будет иметь прогнозируемые биологические свойства.

Однако следует отметить, что непосредственное влияние лекарственных токолитических средств на сокращение миометрия уменьшает время их эффективного использования, непременно приводя к симптоматическому лечению. Именно потому большая роль отводится вопросу об установлении первопричины аномальной сократительной деятельности матки, что позволяет наряду с симптоматическим лечением прибегать и к эффективной фармакологической коррекции упомянутых выше состояний.

По нашему мнению, перспективные, то есть, эффективные и безопасные токолитические препараты должны влиять на ионные каналы, вызывая блокаду кальциевых каналов и активацию калиевых.

Анализируя литературные источники, нами было принято решение осуществить виртуальный скрининг среди производных имидазола (X1). Для достижения поставленной задачи была использована компьютерная программа PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) и виртуальная библиотека

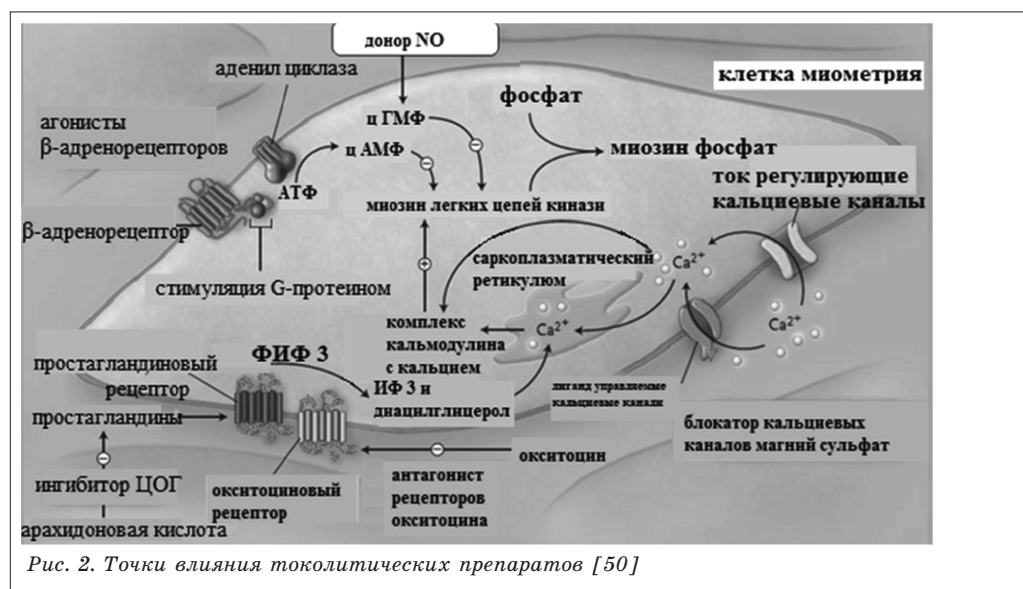


Рис. 2. Точки влияния токолитических препаратов [50]

производных имидазо[1,2-а]азепиния, в состав которой вошло 166 структур.

В результате виртуального скрининга отобрано 25 соединений с прогнозированной токолитической активностью для дальнейших исследований *in vitro* (Х2, Х3, Х4). Фармакологическое воздействие вышеупомянутых производных изучено на трех гладкомышечных органах: мочевом пузыре, матке и сосудах (грудном отделе аорты).

Лидировали три соединения, тестируемые в дальнейшем в опытах *in*

vivo. Они имели следующие преимущества: более чем на 50 % снижали тонус (IFT-176, IFT-208) поперечных полосок рогов матки крыс и до 50 % снижали амплитуду сокращения (IFT-211) [55].

На сегодня в отделе фармакологии сердечно-сосудистых средств ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины» продолжаются исследования *in vivo* и начаты исследования механизма действия вышеприведенных соединений-лидеров.

1. Жаркин Н. А. Современные технологии в профилактике перинатальной и материнской смертности / Жаркин Н. А., Подобед Н. Д., Мирошников А. Е. – Москва : МЕДпресс, 2000. – С. 77–79.
2. Сидорова И. С. Физиология и патология родовой деятельности / И. С. Сидорова. – Москва : МЕДпресс 2000. – 317 с.
3. Абрамченко В. В. Перинатальная фармакология / Абрамченко В. В. – Санкт-Петербург : Logos, 1994. – 463 с.
4. Маринушкин Д. Н. Нарушения сократительной деятельности матки при внутриутробной гибели плода (патогенез, принципы профилактики и лечение) : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук / Д. Н. Маринушкин. – Саратов, 1999. – 24 с.
5. Роль фетального окситоцина в индукции сократительной деятельности матки / Серов В. Н., Салов И. А., Бурлев В. А. [и др.] // Рос. вестник акушера-гинеколога. – 2001. – Т. 1, № 1. – С. 15–19.
6. Современные принципы ведения родов при слабости родовой деятельности / Сидорова И. С., Макаров И. О. Овешникова Т. З. [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 5. – С. 22–30.
7. Mueller-Heubach E. Fetal oxytocin and its extended forms at term with and without labor / Mueller-Heubach E., Morris M., Rose J.C. // Am. J. Obstet. Gynec. – 1995. – V. 173, № 2. – P. 375–381.
8. Denison F. C. The action of prostaglandin E2 on the human cervix: stimulation of interleukin 8 and inhibition of secretory leukocyte protease inhibitor / Denison F. C., Calder A. A., Kelly R. W. // Am. J. Obstet. Gynec. – 1999. – V. 180, № 3. – P. 614–620.
9. Ottinger W. S. A randomized clinical trial of prostaglandin E2 intracervical gel and a slow release vaginal pessary for preinduction cervical ripening / Ottinger W. S., Menard M. K., Brost B. C. // Am. J. Obstet. Gynec. – 1998. – V. 179, № 2. – P. 349–353.
10. Zeeman G. G. Oxytocin and its receptor in pregnancy and parturition: current concepts and clinical implications / Zeeman G. G., Khan Dawood F. S., Dawood M. Y. // Obstetrics and Gynecology. – 1997. – V. 89 (5), № 2. – P. 873–883.
11. Interleukin-8 production by the human cervix / Barclay C., Brennand J., Kelly R., Calder A. // Am. J. Obstet. Gynec. – 1993. – V. 169. – P. 625–632.
12. Bennet P. Changes in expression of the cyclooxygenase gene in human fetal membranes and placenta with labor / Bennet P., Henderson D., Moore G. // Am. J. Obstet. Gynec. – 1992. – V. 167. – P. 212–216.
13. Подтетенев А. Д. Влияние фетального кортизола и других стероидов амниотической жидкости на начало родов и родовую деятельность: Автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук / А. Д. Подтетенев. – Москва : 2000. – 25 с.
14. Чернуха Е. А. Родовый блок / Е. А. Чернуха. – Москва : Триада – X, 2001. – 533 с.
15. Ермошенко Б. Г. Роль лейкоцитарных факторов в подготовке и индукции родов / Ермошенко Б. Г., Шубич М. Г. // Morfologia. – 2000. – V. 117, № 2. – С. 7–12.
16. Steinborn A. Immunomodulating cytokines induce term and preterm parturition / Steinborn A., Kuhnest M., Halberstadt E. // J. Perinat Med. – 1996. – V. 24. – P. 381–390.
17. The 16th. Congress of Obstetrics and Gynaec (EAGO/EBCOG), Sweden, Malmo / Willi M. J., Winkler M., Maul H. [et al.]. – 2001. – P. 20.
18. Differential release of interleukin-6 from human gestational tissues in association with labour and *in vitro* endotoxin treatment / Laham N., Brennecke S. P., Bendtzen K., Rice G. E. // J Endocrinol 1996. – V. 149. – P. 431–439.
19. The 16th. Congress of Obstetrics and Gynaec (EAGO/EBCOG), Sweden, Malmo / Willi M. J., Winkler M., Maul H. [et al.]. – 2001. – P. 20.
20. Interleukin-10 inhibition of interleukin-6 in human amniochorionic membrane: transcriptional regulation / Fortunato S. J., Menon R., Swan K. F., Lombardi S. J. // Am. J. Obstet. Gynec. – 1996. – V. 175 (4), № 1. – P. 1054–1065.

21. The 16th. Congress of Obstetrics and Gynaec (EAGO/EBCOG), Sweden, Malmo / Kemp B., Menon R., Fortunato S. J. [et al.]. – 2001. – P. 41.
22. *Mitchell M. D.* Cytokine networking in the placenta / Mitchell M. D., Trautman M., Dudley D. J. // *Placenta*. – 1993. – № 14. – P. 249–275.
23. *Winkler M., Fisher D., Ruck P. [et al.]* Z Geburtshilfe Neonatal. – 1998. – V. 202. – P. 172–175.
24. Cervical ripening before medical induction of labor: a comparison of prostaglandin E₂, estradiol, and oxytocin / Maggan E. F., Perry K. J., Dockerry J. R. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynec.* – 1995. – V. 172. – P. 1702–1708.
25. *Абрамченко В. В.* Адренергические средства в акушерской практике / В. В. Абрамченко, О. В. Капленко. – Санкт-Петербург : Петрополис, 2000. – 271 с.
26. *Шликов С. Г.* Окситоцин та його роль у контролі внутрішньоклітинного рівня іонів кальцію в міометрії / Шликов С. Г. // *Український біохімічний журнал*. – 2010. – Т. 82, № 2. – С. 5–14.
27. *Циркин В. И.* Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции) / В. И. Циркин, С. А. Дворянский. – Киров, 1997. – 270 с.
28. *Шорников А. И.* Биогенные амины периферической крови при беременности и в родах : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук / Шорников А. И. – Казань, 1998. – 23 с.
29. Immunophenotyping and functional analysis of purified human uterine mast cells / Guo C. B., Kagey-Sobotka A., Lichtenstein L. M., Bochner B. S. // *Bllood*. – 1992. – V. 79, № 3. – P. 708–712.
30. *Сазанов А. В.* Изучение механизмов долгострочной модуляции активности миометрия человека и животных : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук / А. В. Сазанов. – Челябинск, 2000. – 18 с.
31. *Хлыбова С. В.* Индукция сократительной деятельности матки / С. В. Хлыбова, С. А. Дворянский, В. И. Циркин. – Саратов : СГУ, 2000. – С. 96–99.
32. *Северин С. Е.* Молекулярные механизмы регуляции активности клеток / С. Е. Северин, М. А. Пальцев, А. А. Иванов. – Москва : Русский врач, 2001. – 123 с.
33. *Inoue Y.* Gestational change in Na⁺ and Ca²⁺ channel current density in rat myometrial smooth muscle cells / Inoue Y., Sperelakis N. // *Am J Physiol*. – 1991. – № 260. – P. 658–663.
34. *Rezapour M.* Myometrial steroid concentration and oxytocin receptor density in parturient women at term / Rezapour M., Backstrom T., Ulmsten U. // *Steroids*. – 1996. – V. 61, № 6. – P. 338–344.
35. Myometrial transcriptional regulation of the gap junction gene, connexin-43 / Lefebvre D. L., Pier-santi M., Bai X. H. [et al.] // *Reprod Fertil Develop*. – 1995. – V. 7. – P. 603–611.
36. *Chow L.* Expression of the gap junction protein connexin-43 is increased in the human myometrium toward term and with the onset of labor / Chow L., Lye S. // *Am. J. Obstet. Gynec.* – 1994. – V. 170. – P. 788–795.
37. *Osa T.* Electrophysiological comparison between the longitudinal and circular muscles of the rat uterus during the estrous cycle and pregnancy / Osa T., Fujino T. // *Jap J Physiol*. – 1978. – V. 28. – P. 197–209.
38. *Patel F. A.* 44th Ann Meeting of the Soc Gynec Investigation / F. A. Patel, V. L. Clifton, J. R. G. Challis. – California, San Diego, 1997. – P. 125.
39. *Frazer I. S.* Estrogens and progestogens in clinical practice / Frazer I. S., Jansen R. P. S., Lobo R. A.; Whitehead M. I. (eds). – London : Churchill Livingstone, 1998. – 909 p.
40. *Yen S. S. C.* Polycystic ovary syndrome (Hyperandrogenic chronic anovulation) / Yen S. S. C. // *Philadelphia*. – 1994. – P. 382–407.
41. Effects of progesterone and oxytocin on intracellular elemental composition of term human myometrium *in vitro* / Rezapour M., Hongpaisan J., Fu X. [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynec. Biol*. – 1996. – V. 68. – P. 191–197.
42. *Lofgren M.* High progesterone is related to effective human labor. Study of serum progesterone and 5 α -pregnane-3,20-dione in normal and abnormal deliveries / Lofgren M., Backstrom T. // *Acta Obstet Gynec Scand*. – 1997. – V. 76, № 5. – P. 423–430.
43. *Pepe G. J.* Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy / Pepe G. J., Albrecht E. D. // *Endocr Rev*. – 1995. – V. 16. – P. 608–648.
44. *Baulieu E. E.* Basic mechanisms controlling term and preterm birth / Baulieu E. E.; Ed. Chwalisz K., Garfield R. – Berlin-Heidelberg : Springer-Verlag, 1993. – P. 89–95.
45. *Сергеев П. В.* Рецепторы физиологически активных веществ / П. В. Сергеев, Н. Л. Шимановский, В. И. Петров. – Москва : Волгоград, 1999. – 640 с.
46. *Серов В. Н.* Руководство по практическому акушерству / В. Н. Серов, А. Н. Стрижаков, С. А. Маркин. – Москва : Медицинское информационное агентство, 1997. – 424 с.
47. *Гаспарян Н. Д.* Современные представления о механизме регуляции сократительной деятельности матки / Гаспарян Н. Д., Карева Е. Н. // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2003. – Т. 3, № 2. – С. 21–27.
48. *Simhan H. N.* Prevention of preterm delivery / Simhan H. N., Caritis S. N. // *The New England Journal of Medicine*. – 2007. – V. 357. – P. 477–487.
49. Профилактика и ведение невынашивания беременности и преждевременных родов / Макаров О. В., Ганковская Л. В., Козлов П. В. [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2008. – № 5. – С. 19–24.

50. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет / Макаров О. В., Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В. [и др.]. – Москва : Гэотар-Медиа, 2007. – С. 44–99.
51. Peltier M. R. Immunology of term and preterm labor / Peltier M. R. // *Reprod Biol and Endocrino.* – 2003. – № 1. – P. 122.
52. Matrix metalloproteinase-1 and -9 in cervicovaginal fluid from women during pregnancy and in labor / Dijkstra K., Kuszynski E., Lockwood C. J., Visser G. H. A. // *Prenat Neonat Med.* – 2001. – № 6. – P. 122–128.
53. Pretreatment With Toll-like Receptor 4 Antagonist Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Preterm Uterine Contractility, Cytokines, and Prostaglandins in Rhesus Monkeys / Adams Waldorf K. M., Persing D., Novy M. J. [et al.] // *Reproductive Sciences.* – 2008. – V. 15 (2). – P. 121–127.
54. Crowcher C. A. Magnesium sulphate for preventing preterm birth in threatened preterm labour / Crowcher C. A., Hiller J. E., Doyle L. W. // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2002. – 4. – CD001060. см. № 46. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12519550>).
55. Мохорт М. А. Аналіз токолітичної активності похідних імідазо[1,2-а]азепінію / Мохорт М. А., Геращенко І. В. // *Досягнення біології та медицини.* – 2013. – Т. 22, № 2. – С. 6–11.

М. А. Мохорт, І. В. Геращенко, Т. П. Питула **Фармакологічні ефекти токолітиків за передчасних пологів**

Сьогодні існує думка, що розвиток пологової діяльності, а саме ініціація пологів, у більшій мірі залежить від фетальних простагландинів та окситоцину, а підтримання пологової діяльності та експульсію плода забезпечують утеротоніки та простагландини, що синтезуються в організмі матері.

У статті розглянуто останні дослідження з механізму пологів, а також акцентовано увагу на основні ланки патогенезу передчасних пологів. Описано результати лабораторних та клінічних досліджень за останні 10 років.

У роботі розглянуто особливості синтезу та дію простагландинів Е та F₂. Узагальнено дослідження стосовно взаємозв'язку між пологами та збільшенням синтезу деяких цитокінів (інтерлейкіни, фактор некрозу пухлин). Проаналізовано значення первинних естрогенів у перебігу гестаційного періоду та розвитку пологової діяльності. Описано біохімічний вплив окситоцину на кальцевий гомеостаз у клітинах міометрію (зв'язування з окситоциновими рецепторами). Розглянуті гестаційні особливості чутливості міометрію до різних біологічних речовин, а саме окситоцину, серотоніну, гістаміну та катехоламінів. Описано різноспрямовану дію статевих стероїдів на щільність окситоцинових рецепторів. Розглянуто значення Toll-подібних рецепторів у процесі передчасних пологів. Описано вплив адренергічної системи на регуляцію скорочувальної діяльності міометрію та наведено дані стосовно регуляції скорочувальної діяльності міометрію за рахунок іонних каналів. Зазначено можливі точки впливу на клітину міометрію, що сьогодні є підґрунтям для цілеспрямованого пошуку токолітичних препаратів.

Наведено перелік токолітичних препаратів, що використовуються сьогодні в клініці. Проаналізовано останні дослідження з пошуку нового токолітичного препарату у відділі фармакології серцево-судинних засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Наведено узагальнені висновки проведених досліджень. Як лідери для досліджень *in vivo* було виділено три сполуки, які в дослідках на ізольованому міометрії ефективно знижували тонус (більш ніж на 50 % для сполук IFT-176 та IFT-208) та амплітуду (сполука IFT-211) скорочення.

Ключові слова: пологова діяльність, токолітичні засоби, передчасні пологи, окситоцин, міометрій

Н. А. Мохорт, І. В. Геращенко, Т. П. Питула **Фармакологические эффекты токолитиков при преждевременных родах**

На сегодня существует мнение, что развитие родовой деятельности, а именно инициация родов, в большей степени зависит от фетальных простагландинов и окситоцина, а поддержание родовой деятельности и экспульсию плода обеспечивают утеротоники и простагландины, которые синтезируются в организме матери.

В статье рассмотрены последние исследования по вопросам механизма родов, а также акцентировано внимание на основные звенья патогенеза преждевременных родов. Описаны результаты лабораторных и клинических исследований за последние 10 лет.

В работе рассмотрены особенности синтеза и действие простагландинов Е и F₂. Приведен обзор исследования по взаимосвязи между родами и увеличением синтеза некоторых цитокинов (интерлейкины, фактор некроза опухолей). Проанализировано значение первичных эстрогенов в течении гестационного периода и развития родовой деятельности. Описано биохимическое влияние окситоцина на кальцевый гомеостаз в клетке миометрия (связывание с окситоциновыми рецепторами). Рассмотрены гестационные особенности чувствительности миометрия к различным биологическим веществам, а именно окситоцину, серотонину, гистамину и катехоламинам. Описано разнонаправленное действие половых стероидов на плотность окситоциновых рецепторов. Рассмотрено влияние Toll-подобных рецепторов на развитие преждевременных родов. Описа-

но влияние адренергической системы на регуляцию сократительной деятельности миометрия и приведены данные о регуляции сократительной деятельности миометрия за счет ионных каналов. Перечислены возможные точки воздействия на клетку миометрия, что сегодня служит основой для целенаправленного поиска токолитических препаратов.

Приведен перечень токолитических препаратов, используемых сегодня в клинике. Проанализированы последние исследования по поиску нового токолитического препарата в отделе фармакологии сердечно-сосудистых средств ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины». Приведены обобщенные выводы проведенных исследований. Как лидеры для исследований *in vivo* были выделены три соединения, которые в опытах на изолированном миометрии эффективно снижали тонус (более чем на 50 % для соединений IFT-176 и IFT-208) и амплитуду (соединение IFT-211) сокращения.

Ключевые слова: родовая деятельность, токолитические средства, преждевременные роды, окситоцин, миометрий

N. A. Mokhort, I. V. Herashchenko, T. P. Prytula

Pharmacological effects of tocolytic drugs in preterm parturition

Today it is believed that the development of birth activity, namely its initiation to a great extent depends on fetal prostaglandins and oxytocin, but the maintenance of such activity and fetus expulsion provided by uterotonics and prostaglandins, which are synthesized in the mother's organism.

The article reviewed recent studies on the mechanism of delivery and also focused on the basic pathogenesis of preterm birth as the results of laboratory and clinical studies over the past 10 years.

In this paper it have been presented the features of synthesis and action of prostaglandin E and F₂ and also the data on the relationship between childbirth and increased synthesis of certain cytokines (interleukins, tumor necrosis factor). The analysis of the primary importance of estrogen in the gestational period and the parturition process has been performed. There were described the biochemical effects of oxytocin on calcium homeostasis in myometrium cells (binding with oxytocin receptor). Gestational features of myometrium sensitivity to various biological substances such as oxytocin, serotonin, histamine and catecholamines as well as multidirectional action of sex steroids on oxytocin receptors density were reviewed. The role of Toll-like receptors in the process of premature birth was discussed. There were described the effects of adrenergic regulation system on contractile activity of the myometrium and the data concerning the ion channels regulation of myometrium contractile activity.

There were examined the possible points of influence on myometrium cells which are the basis of targeted search for tocolytic drugs now.

The list of tocolytic drugs currently used in the clinic has been presented as well as recent researches on new tocolytic drug development in the department of pharmacology of cardiovascular drugs in SI «Institute of Pharmacology and Toxicology AMS of Ukraine».

Key words: birth activity, tocolytic drugs, preterm parturition, oxytocin, myometrium

Надійшла: 15.07.2015 р.

Контактна особа: Мохорт Н. А., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел. +38 0 44 456 42 56.

Л. О. Громов, К. О. Черноштан, О. Д. Мовчан,
Л. С. Тарнавська, О. К. Ярош

Домінуюча участь півкуль головного мозку в антидепресивних ефектах флуоксетину та пірліндолу

ДУ «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: флуоксетин, пірліндол,
калієва депресія півкуль головного мозку,
антидепресантна активність

Людина у сучасному суспільстві все частіше отримує надважкі навантаження на центральну нервову систему (ЦНС), що веде до її перенапруження з розвитком, зокрема, депресивних станів, які негативно позначаються на комфортності життя та спілкуванні з оточуючими [1, 2]. Депресивні стани, що продовжуються тривалий час, можуть суттєво позначитися й на соматичних реакціях з розвитком серйозних розладів нервової, серцево-судинної, опорно-рухової та інших систем організму і бути початком захворювань з важкими і навіть смертельними наслідками [3, 4]. Тому застосування сучасних базових і нових антидепресивних препаратів є цілком виправданим для усунення більш важких розладів ЦНС і профілактики соматичних наслідків [5]. Однак досить часто ефективність препаратів недостатня, причиною чого є асиметрична дія антидепресантів, яка не співпадає за локалізацією з первинним осередком депресивного вогнища в хворій людині.

Раніше співробітниками відділу була досліджена й показана асиметрична участь півкуль головного мозку (ГМ) в фармакологічних ефектах одного з найпоширеніших класичних антидепресантів – амітриптиліну [6]. Але чіткої класифікації щодо участі інших препаратів цієї групи за їхнім переважним впливом на окремі півкулі ГМ у літературі недостатньо, що значно ускладнює раціональний вибір і призначення хворим з півкульною вогнищевою асиметрією, що

вимагає проведення спеціальних досліджень для вирішення цієї проблеми.

Мета дослідження – вивчити домінуючу участь півкуль ГМ у механізмах специфічних депримируючих ефектів базових антидепресантів флуоксетину й пірліндолу (нормазиолу).

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження виконані відповідно до європейських (Страсбург, 1985 р.) та національних (Україна, 2001 р., 2006 р.) вимог на статевозрілих безпородних білих мишах самця масою 18–25 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Вивчення домінуючої участі лівої або правої півкулі ГМ тварин у специфічних антидепресивних механізмах дії препаратів флуоксетину (fluoxetine, субстанція фармацевтичної компанії Сан Фармасьютікал Індстріз, Індія) чи нормазиолу (pirindolum, субстанція АТ «Олайнфарм», Латвія) проводили до та після формування моделі зворотного функціонального «вимкнення» однієї з півкуль. Цю модель відтворювали шляхом аплікації на півкулю крізь попередньо зроблений у черепі отвір діаметром близько 1 мм 25 % розчину калію хлориду, приготовленого ex tempore [7, 8]. Через 48 год після функціонального «вимкнення» однієї з півкуль мишам піддослідної групи внутрішньоочеревинно (в/о) вводили флуоксетин або пірліндол у дозах 22,5 та 60,0 мг/кг відповідно. Викликану досліджуваным препаратом депресію порівнювали з ефектом антидепресанту в контрольних мишей без аплікації калію хлориду.

Специфічну ефективність флуоксетину й пірліндолу, як антидепресантів, визначали методом «підвішування за хвіст» (tail suspension test), який ґрун-

тується на оцінці змін поведінки тварини, що опинилася в короткостроковому, але неминучому стресі від перебування в підвищеному стані [8]. Реєстрували параметри періодів іммобілізації («зависань», нерухомості) як відсутність ініційованих рухів лише з допустимим пасивним коливанням тіла. Обчислювали: латентний період (ЛП) до першої іммобілізації від початку підвішування, загальну кількість епізодів іммобілізації, а також їхню сумарну тривалість. Вплив флуоксетину чи пірліндолу на поведінку порівнювали зі змінами тих самих показників у тварин контрольної групи, яким вводили воду в еквівалентному об'ємі, або антидепресанти на фоні пригнічення однієї з півкуль ГМ.

Експериментальні дані двох груп порівнювали з визначенням достовірної різниці за критерієм Стюдента при $p < 0,05$ [9, 10].

Результати та їх обговорення. На першому етапі досліджували антидепресант флуоксетин, один з головних механізмів дії якого пов'язаний з інгібуванням зворотного захоплення серотоніну, тому він виявляє відразу декілька основних властивостей: знижує тривожність, зменшує відчуття страху,

обмежує напруженість. Цей препарат є одним з основних представників групи селективних інгібіторів зворотного захоплення серотоніну, у якого антидепресивна дія поєднується зі стимулюючими ефектами. Флуоксетин покращує настрій, знижує напруженість, тривожність і почуття страху, усуває дисфору.

У таблиці 1 наведено результати, що були отримані в експерименті на мишах при визначенні поведінкових показників під впливом флуоксетину. При дослідженні дії препарату на мишах без аплікації калію хлориду і порівнянні їх з даними, отриманими в тварин контрольної групи, виявилось, що флуоксетин викликав типове реагування, характерне для антидепресантів: у 2,1 разу подовжував ЛП до першої іммобілізації, але без суттєвих змін показників чисельності та загальної тривалості епізодів іммобілізації. Однак у тварин, яким флуоксетин вводили на фоні попередньої, за 48 год, аплікації 25 % розчину калію хлориду на одну з півкуль ГМ з почерговим функціональним «вимкненням» лівої чи правої великої півкулі головного мозку, реакція достовірно змінювалася.

Таблиця 1

Показники тесту «tail suspension» у мишей за умов калієвої депресії однієї з півкуль головного мозку та впливу флуоксетину ($M \pm m$)

Експериментальна група	Показник депресії			
	n	латентний період першого епізоду іммобілізації, с	кількість епізодів іммобілізації	загальна тривалість іммобілізації, с
Контроль	10	56,2 ± 10,8	8,5 ± 1,3	118,2 ± 13,7
Флуоксетин, 22,5 мг/кг	10	119,0 ± 27,7*	6,0 ± 0,9	97,8 ± 13,8
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 + Флуоксетин	10	66,1 ± 11,3**	9,9 ± 1,3**	115,2 ± 15,1**
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 + Флуоксетин	4	19,8 ± 5,4#	14,5 ± 1,3#	154,5 ± 17,7#

Примітка. Тут і в табл. 2–3: * $p < 0,05$ відносно контролю; ** $p < 0,05$ відносно калієвої депресії лівої півкулі; # $p < 0,05$ відносно калієвої депресії правої півкулі; n – кількість тварин у групі.

За умов функціонального пригнічення калієм хлоридом лівої півкулі ГМ, введення антидепресанту супроводжувалося подовженням ЛП майже в 2 рази, але зменшувалася кількість іммобілізацій і їхня загальна тривалість відповідно на 61,6 та 51,3 % порівняно з такими у тварин контрольної групи.

Натомість функціональне вимкнення правої гемісфери методом калієвої депресії змінювало ефект флуоксетину інакше (табл. 1). За цих умов антидепресант не подовжував, а навіть достовірно скорочував латентний період до появи першого завмирання в середньому на 84,4 % ($p < 0,05$) порівняно з показником у тварин контрольної групи. У випадку вимкнення лівої півкулі показники кількості завмирань, а також їхня загальна тривалість змінювалися протилежно від реагування на депресію правої півкулі.

Продемонстровані результати свідчать, що за умов калієвої депресії неокортексу та підкіркових структур правої або лівої півкулі головного мозку мишей антидепресивна активність флуоксетину суттєво змінювалася, однак по різному за умов функціонального вимкнення однієї з півкуль. Аналізуючи ці дані, можна висловити припущення, що флуоксетин реалізує антидепресивну дію переважно через зміну функціонального стану неокортексу та підкіркових структур правої півкулі ГМ і в меншій мірі – за участю в цьому процесі лівої гемісфери.

На основі цих результатів цілком слушно припустити, що ліва півкуля ГМ виконує роль своєрідного гальмівного механізму відносно правої півкулі, оскільки після її вимкнення шляхом аплікації розчину калію хлориду антидепресивний ефект суттєво зростає, про що свідчить значне подовження ЛП до першого завмирання та зниження загальної кількості й тривалості завмирань. У той самий час виключення правої мозкової півкулі та введення на такому фоні флуоксетину викликало, навпаки, значне скорочення ЛП та збільшення кількості завмирань і загальної тривалості іммобілізацій.

Таким чином, на основі викладених результатів можна припустити, що в

механізмі антидепресивних ефектів флуоксетину основні впливи реалізуються переважно за рахунок нейрогліальних коркових елементів та підкіркових структур правої півкулі ГМ, а ліва півкуля гальмує антидепресивні механізми, які активує флуоксетин.

Наступну серію дослідження було присвячено виявленню асиметричної участі гемісфер мозку в похідного індолу, який має елементи структурної подібності з серотоніном, а також резерпіном – антидепресантом пірліндолом. Особливістю його дії є поєднання тимолептичного ефекту з регулюючим впливом на ЦНС, який виражається в активуючій дії в хворих на апатичні, анергічні депресії та в седативному ефекті в хворих з ажитованими станами [11]. Пірліндол має також виразний ноотропний ефект, покращує когнітивні функції ЦНС.

Отримані в цій серії експерименту результати (табл. 2) показують, що зворотне пригнічення функціональної активності лівої або правої півкулі ГМ мишей, викликане дією калію хлориду, суттєво змінює антидепресивну ефективність пірліндолу, але відмінне від дії флуоксетину.

Після введення пірліндолу тривалість ЛП подовжувалася в 2,7 разу, а кількість епізодів і тривалість іммобілізації зменшувалися майже наполовину порівняно з показниками, які реєстрували в тварин з «вимкненою» півкулею, але без впливу антидепресанту.

Натомість, функціональне вимкнення правої півкулі змінювало вплив пірліндолу на рухову поведінку тварин по-іншому. Після її зворотного вимкнення пірліндол достовірно зменшував латентний період завмирань у середньому на 63,6 %, а кількість епізодів іммобілізації та їхню загальну тривалість підвищував на 70,4 та 34,5 % відповідно порівняно з такими у тварин контрольної групи. На основі отриманих даних у цій серії досліджень можна вважати, що в пірліндолу, подібно до флуоксетину, антидепресивний ефект реалізується переважно через вплив на неокортекс і підкіркові структури правої півкулі. Однак вплив пірліндолу на структури правої ГМ виявився значно меншим, ніж у флуоксетину (табл. 3).

Показники тесту «tail suspension» у мишей за умов калієвої депресії однієї з півкуль головного мозку та впливу пірліндолу ($M \pm m$)

Експериментальна група	Показник депресії			
	n	латентний період до першого епізоду іммобілізації, с	кількість епізодів іммобілізації	загальна тривалість іммобілізації, с
Контроль	10	56,2 ± 10,8	8,5 ± 1,3	118,2 ± 13,7
Пірліндол	10	87,0 ± 13,5	8,2 ± 0,9	77,4 ± 12,1
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 + Пірліндол	9	62,6 ± 12,9**	12,4 ± 1,3**	105,1 ± 14,5**
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 + Пірліндол	6	46,2 ± 15,0 [#]	9,2 ± 0,8 [#]	91,7 ± 20,7 [#]

Таким чином у пірліндолу переважний вплив на окрему півкулю ГМ був значно меншим, ніж у флуоксетину, що передбачає його клінічне використання в пацієнтів, у яких виразної переваги в розташуванні вогнища депресії в окремих півкулях встановити не вдається. Таке призначення може викликати значно кращий ефект при застосуванні пір-

ліндолу, ніж інших антидепресантів, які досліджувалися нами раніше: амітриптилін та флуоксетин [6].

Отримані результати підтверджують можливість різної участі окремих півкуль ГМ у реалізації антидепресивних ефектів досліджених препаратів.

Наведені результати свідчать, що у випадках необхідності призначення

Порівняльний вплив флуоксетину й пірліндолу на показники тесту «tail suspension» у мишей за умов калієвої депресії правої півкулі головного мозку ($M \pm m$)

Експериментальна група	Показник депресії			
	n	латентний період до першого епізоду іммобілізації, с	кількість епізодів іммобілізації	загальна тривалість іммобілізації, с
Контроль	10	56,2 ± 10,8	8,5 ± 1,3	118,2 ± 13,7
Калієва депресія неокортексу правої півкулі мозку + Флуоксетин	4	19,8 ± 5,4*	14,5 ± 1,3*	154,5 ± 17,7*
Зміни відносно правопівкульної депресії, %		- 84,4	+ 168,5	+ 126,5
Калієва депресія неокортексу правої півкулі мозку + Пірліндол	6	46,2 ± 15,0*	9,2 ± 0,8*	91,7 ± 20,7*
Зміни відносно правопівкульної депресії, %		- 63,6	+ 70,4	+ 34,5

флуоксетину, оптимальним має бути вибір пацієнтів, у яких доведено, що тригерною зоною депресивного стану є нейрогліальні елементи неокортексу та підкіркових структур переважно правої мозкової півкулі. Натомість, у випадку, коли роль у розвитку депресивного стану відіграють обидві півкулі, – має бути призначений пірліндол, у якого участь півкуль в антидепресивному механізмі більш амбівалентна, хоча й з невеликою правопівкульною перевагою.

Такий підхід може виявитися корисним для вибору застосування флуоксетину хворим з «правопівкульним» осередком депресії. Натомість, у пацієнтів з невизначеним осередком депресії, або у хворих з важко диференційованим півкульним варіантом депресивного стану, доцільним буде призначення пірліндолу, у якого значно менша

залежність депримуючого механізму від конкретної півкулі ГМ.

Висновки

1. Антидепресивна дія флуоксетину реалізується переважно через неокортекс і підкіркові структури правої півкулі ГМ.
2. Антидепресивний ефект пірліндолу реалізується через майже однаковий депримуючий вплив на обидві мозкові півкулі.
3. На основі отриманих експериментальних даних можна припустити, що в клінічних умовах призначення флуоксетину буде більш ефективним у пацієнтів з розташуванням патологічного вогнища в правій півкулі, а пірліндолу – у хворих з амбівалентною участю в патології обох мозкових гемісфер та у хворих з невстановленою локалізацією вогнища.

1. Колодзин Б. Как выжить после психической травмы / Б. Колодзин. – Москва, 1994. – 385 с.
2. Арана Дж. Фармакотерапия психических расстройств. Пер. с англ. / Дж. Арана, Дж. Розенбаум. – Москва : Изд-во БИНОМ, 2004. – 416 с.
3. Ушкалова А. В. Депрессии в общесоматической практике: эпидемиология, скрининг, диагностика и фармакотерапия / А. В. Ушкалова // Фарматека. – 2006. – № 7. – С. 17–22.
4. Fallon P. Drug-induced supersensitivity psychosis revisited: characteristics of relapse in treatment-compliant patients / P. Fallon, S. Dursun, B. Deakin // Ther. Adv. Psychopharmacol. – 2012. – V. 2, № 1. – С. 13–22.
5. Дробижев М. Ю. Антипсихотики: меняем старые поколения на новую классификацию? / М. Ю. Дробижев, А. А. Овчинников // Социальная и клиническая психиатрия. – 2010. – Т. 20, № 2. – С. 80–87.
6. Експериментальне дослідження півкульної асиметрії антидепресивних ефектів амітриптиліну / Л. О. Громов, В. Я. Пішель, Л. Г. Гончар-Чердаклі [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 1. – С. 19–23.
7. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – Москва : Высш. шк., 1991. – 399 с.
8. 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.
9. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва : Медиосфера, 2000. – 312 с.
10. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXEL / С. Н. Лапач, А. З. Чубенко, П. Н. Бабич. – Київ : Моріон, 2001. – 408 с.
11. Компендиум – лекарственные средства / Под ред. В. Н. Коваленко. – Киев : Морион, 2012. – 2320 с.

Л. О. Громов, К. О. Черноштан, О. Д. Мовчан, Л. С. Тарнавська, О. К. Ярош **Домінуюча участь півкуль головного мозку в антидепресивних ефектах флуоксетину та пірліндолу**

Мета дослідження – визначити домінуючу дію антидепресантів флуоксетину та пірліндолу на ліву та праву півкулі головного мозку.

Визначення антидепресивної активності досліджуваних препаратів проводили за тимчасової інактивації однієї з півкуль за допомогою методу калієвої депресії. Латентний період до першої іммобілізації від початку підвішування, загальну кількість епізодів іммобілізації та їхню сумарну тривалість реєстрували в тесті «підвішування за хвіст».

Встановлено, що за умов зворотної калієвої депресії лівої або правої півкулі антидепресивна активність флуоксетину проявляється переважною дією на праву півкулю, пірліндол здійснює однаковий вплив на обидві півкулі головного мозку.

Отже, на основі отриманих експериментальних даних можна припустити, що за клінічних умов призначення флуоксетину буде більш ефективним у пацієнтів з локалізацією патологічного вогнища в правій півкулі, а пірліндолу – у хворих з амбівалентною участю в патології обох мозкових гемісфер.

Ключові слова: флуоксетин, пірліндол, калієва депресія півкуль головного мозку, антидепресантна активність

Л. А. Громов, К. А. Черноштан, Е. Д. Мовчан, Л. С. Тарнавская, А. К. Ярош
Доминирующее участие полушарий головного мозга в антидепрессивных эффектах флуоксетина и пирлиндол

Цель исследования – определить доминантное действие антидепрессантов флуоксетина и пирлиндол на левое и правое полушария головного мозга.

Определение антидепрессивной активности исследуемых препаратов проводили при временной инактивации одного из полушарий с помощью метода калиевой депрессии. Латентный период до первой иммобилизации от начала подвешивания, общее количество эпизодов иммобилизации и их суммарную продолжительность регистрировали в тесте «подвешивание за хвост».

Установлено, что в экспериментальных условиях обратимой калиевой депрессии левого или правого полушария антидепрессивная активность флуоксетина проявляется подавляющим воздействием на правое полушарие, пирлиндол осуществляет одинаково эффективное воздействие на оба полушария головного мозга.

Таким образом, на основе полученных экспериментальных данных можно предположить, что в клинических условиях назначение флуоксетина будет более эффективным у пациентов с локализацией патологического очага в правом полушарии, а пирлиндол – у больных с амбивалентным участием в патологии обеих мозговых гемисфер.

Ключевые слова: флуоксетин, пирлиндол, калиевая депрессия полушарий головного мозга, антидепрессантная активность

L. O. Gromov, K. O. Chernoshtan, O. D. Movchan, L. S. Tarnavska, O. K. Yarosh
The dominant participation of the cerebral hemispheres in the antidepressant effect of fluoxetine and pirlindole

The aim of the research was to determine the dominant action of antidepressants fluoxetine and pirlindole on the left and right hemispheres of the brain.

Temporary inactivation of one of the hemispheres were carried out using the method of potassium depression. The latent period of onset of the first episode of immobilization, the total number of immobilization episodes and their total duration were recorded using «tail suspension test».

It was found that the antidepressant action of fluoxetine under experimental conditions of reverse potassium depression of the left or right hemispheres manifested mainly on the right hemisphere. Pirlindole showed equally effective influence on both hemispheres of the brain.

In conclusion, based on the experimental data, it can suggest that prescription of fluoxetine in the clinical setting will be more effective in patients with a pathological focus in the right hemisphere. Pirlindole can be recommended to prescribe to patients with ambivalent participation in pathology of both brain hemispheres.

Key words: fluoxetine, pirlindole, potassium depression of the brain hemispheres, antidepressant action

Надійшла: 15.07.2015 р.

Контактна особа: Ярош Олександр Кузьмич, доктор медичних наук, професор, відділ нейрофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 03 23. Електронна пошта: yarosh44@mail.ru

С. І. Мироненко, О. Р. Піняжко, Р. Б. Лесик

Скринінг сполук з протисудомною активністю серед похідних 4-тіазолідинону

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ключові слова: протисудомна активність, 4-тіазолідинони, PASS-прогноз, коразол-індуковані судоми, МЕШ-тест, ротород-тест, гостра токсичність

Епілепсія є одним з найпоширеніших неврологічних розладів. Її поширеність у всьому світі оцінюється в 0,5–1,0 % [1]. У більшості випадків фармакотерапія є єдиним методом корекції та контролю судомних станів [2]. Незважаючи на суттєвий прогрес у створенні високоефективних протисудомних препаратів проблема пошуку нових оригінальних антиконвульсантів залишається відкритою, перш за все, у контексті розвитку фармакорезистентності та значних побічних ефектів при тривалому застосуванні [3, 4].

Розробка нових протиепілептичних препаратів включає підходи, які базуються на: 1) хімічній і/або структурній модифікації відомих препаратів, що дозволяє отримати препарат з більш вираженою протиепілептичною активністю та/або менш вираженими побічними ефектами порівняно з попередником; 2) скринінгу протиепілептичної активності бібліотек оригінальних молекул в експериментальних моделях епілепсії (*in vivo* та *in vitro*), що дозволяє ідентифікувати принципово нові антиконвульсанти; 3) створенні нових протисудомних препаратів на основі вивчення патофізіологічних механізмів епілептогенезу та нейрональної гіперзбудливості. Доволі часто в експериментальних дослідженнях використовують комбінацію двох або трьох вищезгаданих підходів [5].

Похідні 4-тіазолідинону представляють значний інтерес як потенційні антиконвульсантні агенти [6–8]. Динаміка досліджень у цьому напрямі зростає протягом останніх десятиліть [9–11].

Тестовані оригінальні похідні 4-тіазолідинонів та споріднених гетероциклів були синтезовані науковою групою професора Р. Б. Лесика, (кафедра фармацевтичної, органічної, біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького, м. Львів, Україна).

Мета дослідження – скринінг сполук з протисудомною активністю серед похідних 4-тіазолідинону та дослідження їхніх антиконвульсантних та токсикологічних властивостей.

Матеріали та методи. Віртуальний скринінг протисудомної активності комбінаторної бібліотеки оригінальних 4-тіазолідинонів та споріднених гетероциклів здійснено методом оцінки 2D подібності з використанням спеціалізованого софту PASSC&T [12]. Фармакологічний скринінг антиконвульсантної активності (АКА) проводили відповідно до методичних рекомендацій з доклінічного вивчення лікарських засобів ДФЦ МОЗ України [13].

Дослідження виконано на 180 білих статевозрілих нелінійних мишах обох статей масою 18–25 г, яких утримували в стандартних умовах віварію ЛНМУ імені Данила Галицького. Лабораторних тварин було розподілено на групи: перша група – контрольна патологія – тваринам моделювали судомний стан шляхом одnorазового внутрішньоочеревинного введення пентилентетразолу (коразолу) («Sigma-Aldrich», США) у дозі 90 мг/кг; друга група отримувала внутрішньоочеревинно розчин референс-препарату – сибазону («Здоров'я народу», Україна) у дозі 10 мг/кг + коразол у дозі 90 мг/кг; третій групі піддослідних тварин одnorазово внутрішньоочеревинно вводили досліджувані сполуки у вигляді емульсії в твіні-80 у дозі 50 мг/кг + коразол у дозі 90 мг/кг. Тестування сполук у дозі 50 мг/кг є оптимальним для відбору потенційних антиконвульсантів.

Досліджувані сполуки та референс-препарат вводили за 30 хв до введення коразолу. Оцінку протисудомного ефекту здійснювали за тривалістю латентного періоду розвитку судом, тривалістю фази тоніко-клонічних судом, характером судом та летальністю. Перебіг судомного стану оцінювали за шкалою Геральда [14]. Протисудомною дією сполуки вважали захищеність тварин від розвитку клонічних, тонічних судом та летальності.

Вивчення дозозалежних параметрів та нейротоксичності ідентифікованих потенційних антиковальсантів виконано в рамках міжнародної аутсорсингової програми скринінгу протисудомної дії – Antiepileptic Drug Development Program (Epilepsy Branch of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke, NIH, USA) [15, 16]. Для встановлення названих параметрів сполуки тестували в дозах 30, 100 та 300 мг/кг за умов максимального електрошокового тесту – МЕШ-тест (Maximal Electroshock Test (MES), порогового судомного тесту, викликаного коразолом (Subcutaneous Metrazole Seizure Threshold Test – (scMET) та ротород-тесту («rotorod-test», мінімальне рухове погіршення (MMI) згідно з протоколами дослідження установи [15, 16]. Ці дослідження було проведено на 52 статевозрілих нелінійних мишах обох статей масою 18–25 г та 12 білих щурах лінії Вістар масою 160–180 г.

Визначення гострої токсичності проводили за методом Літчфілда та Уілкоксона [17]. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 10.0 і Microsoft Excel. Результати досліджень антиковальсантної активності надано у вигляді середньоарифметичного (M) і стандартної похибки (m), з урахуванням кількісної вибірки (n). Достовірність результатів досліджень визначали з використанням статистичного методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) та точного критерію Фішера для чотирьохпольної таблиці. Відмінності вважали достовірними при $P \leq 0,05$.

Усі експериментальні процедури виконані згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках» і

Конвенцією Ради Європи про охорону хребетних тварин, які використовуються в експериментах та з іншими науковими цілями, та іншими законодавчими актами, що регулюють дослідження на лабораторних тваринах [18–20].

Результати та їх обговорення. За результатами PASS-прогнозу отримано вибірку з 16 похідних 4-тіазолідинону, які за хімічною будовою належать до арил(гетерил) заміщених 4-тіазолідинонів та похідних 4-тіазолідинон-3(5)-ацетатних кислот; 10 сполук з вибірки вміщують 1,3-тіазольний фрагмент у своїх молекулах. Для відібраних речовин ймовірність антиконвульсантної активності коливається в межах 0,4–0,7 і можливими прогнозованими механізмами реалізації протисудомного ефекту є блокада натрієвих та кальцієвих (N-типу) каналів.

Скринінг та оцінку АКА проводили в 2 етапи. На першому етапі був здійснений первинний скринінг АКА для вибору сполук з прогнозованою протисудомною активністю за умов коразолової моделі судом [13]. Результати досліджень узагальнено в таблиці 1.

Згідно з результатами скринінгу АКА (табл. 1), тестовані сполуки по різному впливають на ключові параметри коразол-індукованих судом. Збільшення тривалості латентного періоду відносно контрольної групи тварин спостерігається при введенні сполук Les-2658 – на 81,4 %, Les-2295 – на 25,5 % та Les-1205 – на 60,5 %. Решта тестованих сполук спричиняють скорочення тривалості латентного періоду в діапазоні від 18,6 % (Les-889) до 55,9 % (Les-1258). При введенні сполук Les-2658 та Les-1205 візуально фіксовані судомні прояви практично відсутні, а тривалість судом наблизена до такої референс-препарату.

Зменшення тривалості судом на 30 % відносно до контрольної групи спостерігається також за введення сполуки Les-2295. У той час як решта сполук демонструють проконвульсантні властивості та спричиняють зростання тривалості судом від 29,5 % (Les-1929) до 86,8 % (Les-1195) відносно до контрольної групи тварин. Виживання всіх піддослідних тварин в експерименті

Таблиця 1

Скринінг протисудомної активності серед похідних 4-тіазолідинону на моделі коразолових судом у мишей, $M \pm m$ ($n = 10$)

Група	Тривалість латентного періоду, хв	Тривалість судом, хв	Летальність, абс. (%)	Інтенсивність судом, бал
Коразол (контроль)	$4,3 \pm 0,3$	$6,1 \pm 0,8$	10 (100)	3,9
Сибазон	$8,6 \pm 0,2^*$	$0,5 \pm 0,1^*$	0	0,2
Les-2658	$7,8 \pm 0,4^*$	$0,8 \pm 0,1^*$	0	0,5
Les-855	$2,3 \pm 0,8^*$	$10,9 \pm 0,3^*$	10 (100)	4,3
Les-1759	$2,9 \pm 0,5^*$	$11,1 \pm 0,9^*$	10 (100)	4,2
Les-2295	$5,4 \pm 0,4^*$	$4,3 \pm 0,2$	7 (70)	2,8
Les-1925	$3,0 \pm 0,4$	$8,8 \pm 0,9$	10 (100)	4,1
Les-1135	$2,1 \pm 0,9^*$	$10,2 \pm 0,6^*$	10 (100)	4,0
Les-1929	$3,3 \pm 0,3$	$7,9 \pm 0,2$	10 (100)	3,7
Les-1258	$1,9 \pm 0,7^*$	$9,5 \pm 0,4^*$	10 (100)	3,3
Les-1276	$2,2 \pm 0,6^*$	$10,9 \pm 0,7^*$	10 (100)	3,9
Les-1297	$2,3 \pm 0,5^*$	$8,1 \pm 0,5$	10 (100)	3,8
Les-889	$3,5 \pm 0,2$	$9,3 \pm 0,8^*$	10 (100)	4,2
Les-1068	$2,1 \pm 0,3^*$	$8,4 \pm 0,6$	10 (100)	4,1
Les-1205	$6,9 \pm 0,9^*$	$1,1 \pm 0,1^*$	2 (20)	1,2
Les-3365	$2,3 \pm 0,4^*$	$10,2 \pm 1,5^*$	10 (100)	4,0
Les-3367	$2,0 \pm 0,5^*$	$8,7 \pm 0,8$	10 (100)	3,3
Les-1195	$2,1 \pm 0,9^*$	$11,4 \pm 0,9^*$	10 (100)	3,4

Примітка. *Відмінності достовірні порівняно з контролем, $P < 0,05$.

спостерігали лише при введенні сполуки Les-2658, часткову летальність (20 %) спостерігали при введенні сполуки Les-1205. У решті сполук летальність становить майже 100 %. У разі введення сполуки Les-2658 – практично відсутня судомна активність, у той час як застосування похідного Les-1205 характеризується слабкими гіперкінетичними проявами. У інших тварин відмічали виразні клонічні судоми передніх лапок, тоніко-клонічні судоми, була наявною фаза тонічної екстензії (характер судом від 2,8 до 4,3 бала за шкалою Геральда).

На другому етапі експерименту для сполук Les-2658 та Les-1205, які виявили виразну протисудомну дію за умов коразолового тесту, були проведені дослідження дозозалежних параметрів за умов максимального електрошокового тесту (MES), порогового судомного тесту, викликаного коразолом (scMET), нейротоксичності

(ротород-тест, MMI) та визначення гострої токсичності LD_{50} . Результати досліджень узагальнені в таблиці 2.

У результаті розширеного дослідження протисудомної активності сполук Les-2658 та Les-1205 встановлено, що вони є неактивними за умов максимального електрошокового тесту (MES) незалежно від застосованої дози. Тестовані речовини демонструють виразний протекторний ефект у дозі 300 мг/кг у scMET-тесті на мишах у двох паралельних дослідженнях. Згідно з процедурою скринінгу за програмою Antiepileptic Drug Development Program [15, 16], сполуки Les-2658 та Les-1205 були протестовані в scMET-тесті на щурах, унаслідок чого встановлено, що в дозі 50 мг/кг речовини виявляють помірний протекторний ефект протягом періоду спостереження від 0,5 до 4,0 год. Досліджувані сполуки характеризуються помірно нейротоксичністю за результатами дослідження в ротород-тесті (MMI).

**Залежність протисудомної активності похідних 4-тіазолідинонів від дози,
введеної мишам**

Сполука	Доза, мг/кг	додатковий жайвот					
		MES		scMET		MMI	
		кількість «захищених» тварин /кількість тестованих тварин					
		0,5 год	4,0 год	0,5 год	4,0 год	0,5 год	4,0 год
Les-2658	30	0/1	0/1	0/1	0/1	0/4	0/2
	100	0/3	0/3	0/1	0/1	0/8	0/4
	300	0/1	0/1	4/5	1/1	2/4	1/2
Les-1205	30	0/1	0/1	0/1	0/1	0/4	0/2
	100	0/3	0/3	0/1	0/1	0/8	0/4
	300	0/1	0/1	1/1	1/1	1/4	1/2

Подібний профіль протиепілептичної активності характерний для класичних препаратів першої (етосуксемід, фенобарбітал, бензодіазепіни, вальпроати) та другої (фелбамат, габапентин, тіагабін, вагабатрин) генерації антиконвульсантів [21, 22]. Встановлені показники LD₅₀ сполук Les-2658 621 (545 ÷ 697) мг/кг та Les-1205 534 (465 ÷ 603) мг/кг дозволяють віднести їх до малотоксичних сполук за класифікацією К. К. Сидорова (IV клас токсичності) [23].

Висновки

1. За результатами віртуального (PASS-прогноз) та первинного фармакологічного скринінгу на моделі коразолових судом у мишей серед похідних 4-тіазолідинону ідентифіковано сполуки Les-2658 та Les-1205, що виявляють протисудомну дію, еквівалентну референс-препарату сибазону.
2. При дослідженні протисудомних властивостей сполук Les-2658 та

Les-1205 встановлено, що вони демонструють виразну антиконвульсантну активність у scMET-тесті на мишах та щурах у дозах 300 мг/кг та 50 мг/кг відповідно протягом періоду спостереження від 0,5 до 4,0 год та задовільні параметри токсичності.

3. Встановлені показники протисудомної активності та токсичності сполук Les-2658 та Les-1205 дозволяють розглядати їх як нові потенційні протисудомні агенти, що можуть бути рекомендовані для поглибленого вивчення антиепілептичної дії.

Автори статті висловлюють щире подяку д-ру Л. Дж Мерфі (Dr. L. J. Murphee), Anticonvulsant Screening Program, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institute of Health, Rockville, MD, USA та фахівцям вказаної установи за проведене *in vivo* тестування антиконвульсантної активності синтезованих сполук.

1. Berg A. T. New concepts in classification of the epilepsies: Entering the 21st century / A. T. Berg, I. E. Scheffer // *Epilepsia*. – 2011. – V. 52. – P. 1058–1062.
2. The Epilepsies. The diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care [Електронний ресурс] // National Institute for Health and Clinical Excellence. – 2012. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.nice.org.uk/guidance/cg137/resources/cg137-epilepsy-full-guideline3>.
3. Perucca P. Adverse effects of antiepileptic drugs / P. Perucca, F. G. Gilliam // *Lancet*. – 2012. – V. 9. – P. 792–802.
4. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies / K. Patrick, A. Alexis, A. T. Berg [et al.]. // *Epilepsia*. – 2010. – № 51. – P. 1069–1077.
5. Luszczki J. J. Third-generation antiepileptic drugs: mechanism of action, pharmacokinetics and interactions / J. J. Luszczki // *Pharm. Rep.* – 2009. – V. 61. – P. 197–216.
6. Lesyk R. 4-Thiazolidones: Centenarian History, Current Status and Perspectives for Modern Organic and Medicinal Chemistry / R. Lesyk, B. Zimenkovsky // *Curr. Org. Chem.* – 2004. – V. 8. – P. 1547–1578.
7. Зіменковський Б. С. 4-Тіазолідони. Хімія, фізіологічна дія, перспективи. Монографія / Б. С. Зіменковський, Р. Б. Лесик. – Вінниця : НОВА КНИГА, 2004. – 106 с.
8. Verma A. 4-Thiazolidinone: a biologically active scaffold / A. Verma, S. K. Saraf // *Eur. J. Med. Chem.* – 2008. – V. 43. – P. 897–905.

9. Derivatives of benzimidazole pharmacophore: Synthesis, anticonvulsant, antidiabetic and DNA cleavage studies / R. V. Shingalapuri, K. M. Hosamani, K. S. Rangappa, H. H. Mallinath. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – V. 45. – P. 1753–1759.
10. Synthesis, characterization and evaluation of anticonvulsant activity of some novel 4-thiazolidinone derivatives / A. Bhaumik, M. A. Chandra, S. Saha [et al.] // *Sch. Acad. J. Pharm.* – 2014. – V. 3 (2). – P. 128–132.
11. Malik S. Design, synthesis and anticonvulsant evaluation of N-(benzo[d]-thiazol-2-ylcarbamoyl)-2-methyl-4-oxoquinazoline-3(4H)-carbothioamide derivatives: A hybrid pharmacophore approach / S. Malik, R. S. Bachare, S. A. Khan. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2013. – V. 67. – P. 1–13.
12. Порошков В. В. Компьютерное предсказание биологической активности веществ / В. В. Порошков [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ibmn.msk.su/PASS>
13. Головенко М. Я. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів: Метод. рекомендації / М. Я. Головенко, Л. О. Громов. – Київ : ВД «Авіцена», 2003. – 26 с.
14. Gerald M. C. Acute and chronic effects of d- and l-amphetamine on seizure susceptibility in mice / M. C. Gerald, W. H. Rife // *Eur. J. Pharmacol.* – 1973. – V. 21 (3). – P. 323–330.
15. Stables J. P. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Anticonvulsant Screening Project Report. Chapter 16 / J. P. Stables, H. J. Kupferberg [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.ninds.nih.gov/about_ninds/anticonvulsant_screening_project.htm.
16. Stables J. P. The NIH Anticonvulsant Drug Development (ADD) Program: preclinical anticonvulsant screening project / J. P. Stables, H. J. Kupferberg // In *Molecular and Cellular Targets for Anti-Epileptic Drugs*; Ed. G. Avarzini, P. Tanganelli, M. Avoli. – John Libbey & Co, 1997. – P. 191–198.
17. Litchfield J. T. A simplified method of evaluating dose-effect experiments / J. T. Litchfield, F. Wilcoxon // *J. Pharm. Exp. Ther.* – 1949. – V. 96. – P. 99–113.
18. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках / Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2003. – Т. 22, № 2. – С. 108–109.
19. Закон України. Про захист тварин від жорстокого поводження [Електронний ресурс] // Відомості Верховної Ради України (ВВР). – 2006. – Режим доступу до ресурсу: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.
20. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose. – Strasbourg, Council of Europe, Publication and Documents Division. – Printed in France. – Edition November, 1987.
21. White H. S. Preclinical development of antiepileptic drugs: past, present, and future directions / H. S. White // *Epilepsia*. – 2003. – V. 44. – С. 2–8.
22. Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs / W. Löscher // *Seizure*. – 2011. – V. 20. – С. 359–368.
23. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К. К. Сидоров // *Токсикология новых промышленных химических веществ*. – 1973. – № 13. – С. 47–51.

С. І. Мироненко, О. Р. Піняжко, Р. Б. Лесик

Скринінг сполук з протисудомною активністю серед похідних 4-тіазолідину

Мета дослідження – скринінг сполук з протисудомною активністю серед похідних 4-тіазолідину та дослідження їхніх антиконвульсантних та токсикологічних властивостей.

Матеріали та методи: бібліотека похідних 4-тіазолідину, віртуальний скринінг (PASS-прогноз), фармакологічний скринінг антиконвульсантної активності (модель пентилентетразолових (коразолових) судом, максимальний електрошоковий тест, ротород-тест), визначення гострої токсичності за методом Літчфілда та Уїлксона, статистичні методи обробки отриманих даних (програми Statistica 10.0, Microsoft Excel).

У результаті поєднання методів віртуального та фармакологічного скринінгу антиконвульсантної активності серед оригінальних похідних 4-тіазолідину та споріднених гетероциклів ідентифіковано сполуки Les-2658 та Les-1205, що покращують ключові параметри коразол-індукованих судом: збільшують латентний період на 81,4 % та 60,5 % відповідно, знижують період тривалості судом до рівня препарату «Сибазон», забезпечують практично повне виживання піддослідних тварин в експерименті та усувають прояви судомної активності. При дослідженні дозозалежних параметрів сполук Les-2658 та Les-1205 встановлено, що речовини демонструють виразну протисудомну активність у дозі 300 мг/кг на мишах та помірний протекторний ефект у дозі 50 мг/кг на щурах протягом періоду спостереження від 0,5 до 4,0 год за умов порогового судомного тесту. Встановлені показники LD₅₀ сполук Les-2658 та Les-1205 дозволяють віднести їх до малотоксичних сполук за класифікацією К. К. Сидорова (IV клас токсичності).

Таким чином, ідентифіковано похідні Les-2658 та Les-1205, що виявляють протисудомну дію, еквівалентну референс-препарату «Сибазон». Досліджені параметри протисудомної активності та токсичності сполук Les-2658 та Les-1205 дозволяють розглядати їх як нові потенційні протисудомні агенти, що можуть бути рекомендовані для поглибленого вивчення антиепілептичних властивостей.

Ключові слова: протисудомна активність, 4-тіазолідинони, PASS-прогноз, коразол-індуковані судми, МЕШ-тест, ротород-тест, гостра токсичність

С. И. Мироненко, О. Р. Пиняжко, Р. Б. Лесик
Скрининг соединений с противосудорожной активностью
среди производных 4-тиазолидинона

Цель исследования – скрининг соединений с противосудорожной активностью среди производных 4-тиазолидинона и исследование их антиконвульсантных и токсикологических свойств.

Материалы и методы: библиотека производных 4-тиазолидинона, виртуальный скрининг (PASS-прогноз), фармакологический скрининг антиконвульсантной активности (модель пентилентетразоловых (коразоловых) судорог, максимальный электрошоковый тест, ротород-тест), определение острой токсичности по методу Литчфилда и Уилкоксона, статистические методы обработки полученных данных (программы Statistica 10.0, Microsoft Excel).

В результате сочетания методов виртуального и фармакологического скрининга антиконвульсантной активности среди оригинальных производных 4-тиазолидинона и родственных гетероциклов идентифицированы соединения Les-2658 и Les-1205, которые улучшают ключевые параметры коразол-индуцированных судорог: увеличивают латентный период на 81,4 % и 60,5 % соответственно, снижают период продолжительности судорог на уровне препарата «Сибазон», обеспечивают практически полное выживание подопытных животных в эксперименте и устраняют проявления судорожной активности. При исследовании дозозависимых параметров соединений Les-2658 и Les-1205 установлено, что вещества демонстрируют выраженную противосудорожную активность в дозе 300 мг / кг на мышах и умеренный протекторный эффект в дозе 50 мг / кг на крысах за период наблюдения от 0,5 до 4,0 часов в условиях порогового судорожного теста, вызванного коразолом. Установленные показатели LD₅₀ соединений Les-2658 и Les-1205 позволяют отнести их к малотоксическим соединениям по классификации К. К. Сидорова (IV класс токсичности).

Таким образом, идентифицированы производные Les-2658 и Les-1205, которые проявляют противосудорожное действие, эквивалентное референс-препарату «Сибазон». Изученные параметры противосудорожной активности и токсичности соединений Les-2658 и Les-1205 позволяют рассматривать их как новые потенциальные противосудорожные агенты и как такие, которые могут быть рекомендованы для углубленного изучения антиэпилептических свойств.

Ключевые слова: противосудорожная активность, 4-тиазолидиноны, PASS-прогноз, коразол-индуцированные судороги, МЭШ-тест, ротород-тест, острая токсичность

S. I. Myronenko, O. R. Pinyazhko, R. B. Lesyk
Screening of compounds with anticonvulsant activity
among 4-thiazolidinone derivatives

The purpose of research – screening of compounds with anticonvulsant activity among 4-thiazolidinone derivatives and studying of their anticonvulsant and toxicological properties.

Materials and methods: the library of the 4-thiazolidinone derivatives, virtual screening (PASS-prediction), pharmacological screening of anticonvulsant activity: pentylentetrazol (metrazol) seizures, maximal electroshock test, rotorod test, determination of acute toxicity by Litchfield and Wilcoxon, statistical methods: software Statistica 10.0, Microsoft Excel).

Original 4-thiazolidinone derivatives Les-2658 and Les-1205 were identified using the combination of virtual and pharmacological screening of anticonvulsant activity. Compounds Les-2658 and Les-1205 improve key parameters of pentylentetrazol – induced seizures: increase latency by 81,4 % and 60,5 %, respectively, decrease duration of seizures at sibazon, provide almost complete survival of animals in the experiment and eliminate the manifestations of seizure activity. In the dose-dependent assay compounds Les-2658 and Les-1205 exhibit anticonvulsant activity at a dose of 300 mg/kg in mice and a moderate protective effect at a dose of 50 mg/kg in rats during the observation period from 0,5 to 4,0 hours under conditions pentylentetrazol-induced seizures. Established value of the LD₅₀ for compounds Les-2658 and Les-1205 allow to carry them to IV class of toxicity.

Thus, 4-Thiazolidinone derivatives Les-2658 and Les-1205 which exhibit anticonvulsant activity equivalent to the reference drug sibazon were identified. The studied parameters of anticonvulsant activity and toxicity of the compounds Les-2658 and Les-1205 can be considered as a potential new anticonvulsants, and as such, may be recommended for in-depth study of antiepileptic properties.

Key words: anticonvulsant activity, 4-thiazolidinones, PASS-prediction, pentylentetrazol-induced seizures, MES test, rotorod test, acute toxicity

Надійшла: 15.07.2015 р.

Контактна особа: Мироненко С. І., Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, буд. 69, вул. Пекарська, м. Львів, 79010. Тел.: + 38 032 275 76 32.

Д. О. Дринь¹, М. І. Мельник², І. В. Кізуб²,
О. В. Жолос^{1,3}, А. І. Соловійов²

Функціональна експресія та роль TRPV4-каналів у регуляції тонуусу легеневиx артерій щура

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка

²ДУ «Інститут фармакології та токсикології

Національної академії медичних наук України», м. Київ

³Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України, м. Київ

Ключові слова: іонні канали, канали транзйєнтного рецепторного потенціалу, TRPV4, гладенькі м'язи, легеневі артерії

Канали транзйєнтного рецепторного потенціалу (transient receptor potential) (TRP-канали) – це велике сімейство сенсорних та рецептор-керованих неселективних кальцій-проникних катйєнних каналів, що за своєю чисельністю в клітинах організму ссавців поступаються лише потенціал-залежним кальєвим каналам. Ці канали регулюються різноманітними стимулами – фізичними (температурою, тиском, механічними стимулами) і хімічними (ліпідами, вторинними посередниками тощо), що робить їх одними з найважливіших кандидатів на роль полімодальних сенсорів клітини. Як у збудливих, так і незбудливих типах клітин вони виконують такі різноманітні фізіологічні функції, як ноцицепція, відчуття термічного болю, відчуття змін осмольярності, рецептор керований вхід кальцію, секреція, проліферація, міграційний рух клітин, м'язове скорочення, регуляція альвеол, відчуття болю, сприйняття кислого, солодкого та гіркого смаку, редокс-сенсору тощо [1–5].

На відміну від більшості представників інших типів йєнних каналів, сімейство TRP-каналів прийнято класифікувати за гомологією амінокислотних послідовностей, а не за функціональною активністю та йєнною селективністю. Натепер у клітинах ссавців було відкрито близько 30 представників TRP-каналів, що згруповані в шість підродин на основі гомології амінокислотних послідовностей: TRPC ("canonical"),

TRPM ("melastatin"), TRPV ("vanilloid"), TRPA ("ankyrin"), TRPML ("mucolipin"), TRPP ("polycystin"). Усі TRP-канали мають будову, подібну до потенціал-залежних кальєвих каналів (K_v), та складаються з 6 трансмембранних сегментів (S1–S6) з внутрішньоклітинними N- і C-кінцями. Між п'ятим (S5) та шостим (S6) сегментом розміщується так звана Р-петля і пора каналу. Проте більшість цих каналів не мають зовсім, або мають лише слабку потенціалзалежність, тому що четвертий (S4) сегмент не містить позитивно заряджених амінокислотних залишків, які утворюють сенсор потенціалу K_v -каналів. Функціонально TRP-канали можуть бути як гомо-, так гетеротетрамерами, що складаються з однакових або схожих за будовою TRP-субодиниць [6–10].

Підродина TRPV включає термо- та хемочутливі канали. Вперше експресійно клонований TRPV1-канал було досліджено за допомогою ліганду – алкалоїду капсаїцину, що міститься в червоному перці *Capsicum*. Сьогодні підродина зросла до шістьох представників TRPV1–TRPV6 [11].

Відомо, що TRPV4 регулюють судинний тонус, а чутливість TRPV4 до змін осмольярності важлива при клітинній та тканинній осморегуляції. TRPV4 – це Ca^{2+} та Mg^{2+} -проникний неселективний катйєнний канал, який експресований у багатьох тканинах, включаючи нирки, мозок, легені, кровоносні судини, серце, печінку та скелетні м'язи. TRPV4 мають виражену полімодальну регуляцію, тобто ці канали можуть бути активованими такими різноманітними фізичними та хімічними факто-

рами, як знижена осмолярність, тиск, тепло, ендогенні речовини, такі як арахідонова кислота, а також синтетичними сполуками – (N-((1S)-1-[[4-((2S)-2-[[2,4-дигідрофеніл) сульфаніл]аміно]-3-гідроксипропаноіл)-1-піперазиніл]карбоніл)-3-метилбутил)-1-бензотіофен-2-карбоксамід (GSK1016790A). Вони поширені в гіпоталамусі, шкірі та периферичних сенсорних нейронах і тому були запропоновані на роль сенсорів температури в цих органах [12–15].

TRPV4 активуються за показників температури в межах 27–34 °C, отже, при близьких до фізіологічної температури значеннях канали повинні мати виражену спонтанну активність. За біофізичними властивостями проникність для двовалентних катіонів Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} у TRPV4-каналів майже однакова, але за фізіологічних умов Ca^{2+} є основним іоном, що транспортується через канал [12–15].

Сьогодні роль ванілоїдного типу TRP-каналів у функціонуванні судинної тканини досліджена недостатньо, хоча відбувається швидке накопичення даних, які свідчать про їхню важливу роль для серцево-судинної системи як у нормі, так і в разі різних патологічних станів [16]. Наявні дані літератури свідчать про важливу роль TRPV4-каналів у регуляції функціональної активності судин, а також можуть бути новими потенційними мішенями при лікуванні судинних захворювань. Зокрема, TRPV4-канали, згідно з останніми дослідженнями [17, 18], експресуються в надмірній кількості в гладеньких м'язах легеневих артерій при хронічній гіпоксії та легеневої гіпертензії, що викликана нею. Наразі вже створено та досліджено численні фармакологічні речовини для вивчення представників підродини TRPV, але разом з тим, дотепер існують значні проблеми. Можна зазначити декілька з них: по-перше, найскладнішим є пошук специфічних блокаторів каналу; по-друге, ліганди мають обмежену селективність; по-третє, гетеромультимеризація різних ізоформ TRPV-каналів і їхня взаємодія з не-TRP білками в нативних клітинах судин також може змінювати їхні фармакологічні властивості [19].

Мета дослідження – вивчити вплив селективного агоніста TRPV4 GSK1016790A на скоротливу активність гладеньких м'язів основних легеневих артерій (ОЛА) щурів, а також визначити, чи може TRPV4 бути фармакологічною мішенню для регуляції тонуусу та усунення дисфункцій легеневих артерій.

Матеріали та методи. У експериментах використовували щурів-самців лінії Wistar середньою масою 180–200 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Роботи проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях, та згідно з ухвалою Комітету з етики.

Виділення ізолятованих препаратів легеневої артерії щурів. Досліди проводили на ізолятованих кільцевих препаратах ОЛА. Після попередньої анестезії (кетамін – 45 мг/кг, ксилазин – 10 мг/кг) тварини були піддані евтаназії шляхом декапітації з наступним знекровленням. Після цього розтинали грудну клітку, вилучали разом легені, серце й аорту та відмивали тканини від крові. Під бінокулярним мікроскопом виділяли ОЛА та нарізали на кільця з внутрішнім діаметром 0,9–1,5 мм та шириною 1 мм.

Для препарування кілець ОЛА та проведення дослідів використовували модифікований розчин Кребса такого складу (ммоль/л): 133 NaCl, 16,3 NaHCO_3 , 1,38 NaH_2PO_4 , 4,7 KCl, 1,05 MgCl_2 , 11,5 глюкози, 2,73 CaCl_2 , 10 HEPES; pH = 7,4 (з використанням NaOH). Усі компоненти для розчину були отримані від Sigma Co. (США).

Рєєстрація скоротливої активності. Скоротливі реакції гладеньких м'язів з інтактним ендотелієм досліджували в ізометричному режимі з використанням методу тензометричної рєєстрації за допомогою ємнісних датчиків напруження та комп'ютерної програми LabScribe 2 (World Precision Instrument Inc., США). Відпрепаровані судинні препарати розміщували в проточній камері об'ємом 0,5 мл, у якій підтримували температуру 37 °C.

Судинні препарати закріплювали на двох сталевих гачках, один з яких був стаціонарно вмонтований в стінку камери, а інший поєднаний зі штоком тензодатчика. Для отримання оптимальної сили скорочення судинні сегменти підлягали попередньому пасивному розтягненню з силою приблизно 0,5 г. Препарати ОЛА перфузували розчином Кребса зі сталою швидкістю протікання 1,5 мл/хв за допомогою 4-канального перистальтичного насоса IPS ISM 930 «Ismatec» (Німеччина).

Для оцінки функційного стану судин та досягнення їхніх оптимальних скоротливих відповідей до початку експерименту судинні препарати періодично стимулювали гіперкалієвим розчином (K^+ 60 ммоль/л). Для визначення ефекту дії селективного агоніста TRPV4-каналів GSK1016790A на скоротливу активність гладеньких м'язів ОЛА застосовували аплікацію даної речовини в концентрації 0,3 мкмоль/л на судинні препарати за умови їхнього попереднього скорочення агоністом α -адреноцепторів фенілефрином (ФЕ) – 10 мкмоль/л. Вазодилатацію та вазоконстрикцію виражали у відсотках від скорочення, викликаного ФЕ. Аплікацію всіх застосованих хімічних речовин здійснювали за допомогою перфузійної системи.

Статистична обробка результатів. Усі експериментальні дані наведено у вигляді середнього арифметичного (M) $\pm$ стандартна похибка середнього арифметичного (m) для певної вибірки (n).

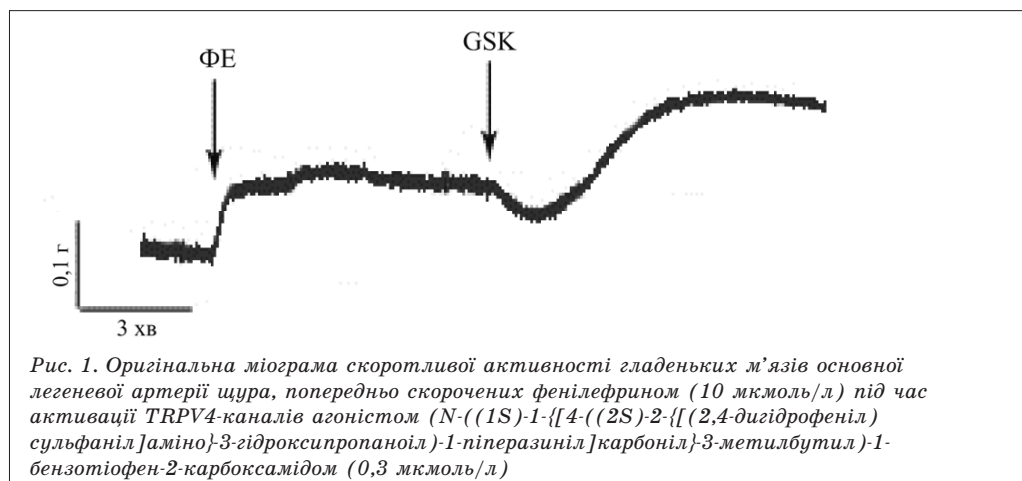
Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою t -критерію Стюдента, дані вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$. Усі розрахунки проводили з використанням комп'ютерної програми OriginPro 7.5 (Microcal Software Inc., США).

Результати та їх обговорення. На першому етапі дослідження було показано, що аплікація агоніста TRPV4-каналів GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) викликає двофазну скоротливу відповідь ізольованих препаратів ОЛА, попередньо скорочених ФЕ (10 мкмоль/л). Ця двофазна скоротлива відповідь складається з початкової транзиторної фази розслаблення та наступної тонічної фази скорочення (рис. 1–2).

Перша фаза розслаблення внаслідок дії агоніста TRPV4-каналів сягала максимуму через 2 хв та складала ($58,8 \pm 10,8$) % ($n = 8$) відносно амплітуди скорочення, викликаного ФЕ. Фаза тонічного скорочення сягала свого піка на 12 хв після аплікації GSK1016790A та складала ($125,2 \pm 9,2$) % ($n = 8$) від рівня скорочення викликаного ФЕ (рис. 2). Десенситизація скоротливої реакції ОЛА на агоніст TRPV4-каналів була незначною.

Надані результати (рис. 1 і 2) свідчать про наявність функціональної експресії TRPV4-каналів у гладеньком'язових клітинах ОЛА та їхню участь у регуляції тонусу цих судин.

Загальну схему участі TRPV4 у регуляції метаболізму кальцію в гладеньком'язових клітинах кровоносних судин наведено на рисунку 3.



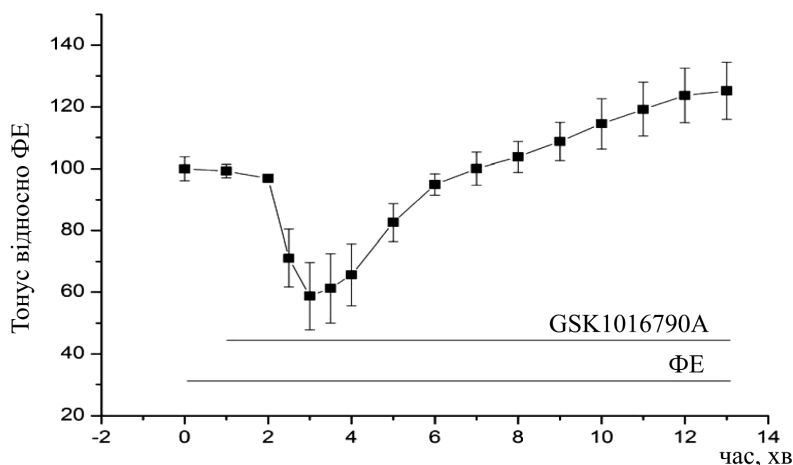


Рис. 2. Двофазна скоротлива відповідь гладеньких м'язів основної легеневої артерії щура, попередньо скорочених фенілефрином (10 мкмоль/л) на дію агоніста TRPV4-каналів (*N*-((1*S*)-1-[[4-((2*S*)-2-[[2,4-дигідрофеніл]сульфаніл]аміно]-3-гідроксипропанойл)-1-піперазиніл]карбоніл]-3-метилбутил)-1-бензотіофен-2-карбоксаміду (0,3 мкмоль/л), $n = 8$

На схемі (рис. 3) проілюстровано загальний план будови та розташування в мембрані TRPV4-каналу, а також зображено механізм рецептор-залежного входу Ca^{2+} , який було описано у вступі. GSK1016790A – це нещодавно синтезований селективний і потужний агоніст TRPV4. Дія агоніста

GSK1016790A викликає вхід Ca^{2+} через TRPV4-канали, що спричиняє підвищення концентрації внутрішньоклітинного кальцію ($[\text{Ca}^{2+}]_i$). Вільні іони Ca^{2+} зв'язуються та активують ріанодинові рецептори (RyR) на саркоплазматичному ретикулумі. RyR у свою чергу вивільняють іони Ca^{2+} зі саркоплазматичного депо в цитозоль і, таким чином, перетворюють позаклітинні сигнали у внутрішньоклітинну кальцієву сигналізацію, а також підвищують і регулюють рівень $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

Згідно з сучасними даними літератури, відомо, що TRPV4-канали експресуються не лише в гладеньких м'язах судин, але й в ендотелії [20]. Також важливо зазначити, що в інших дослідженнях була показана активація TRPV4-каналів у легених артеріях, яка викликала лише однофазну вазоконстрикцію [17, 18]. Натомість наші результати показали, що активація TRPV4-каналів у клітинах стінки ОЛА щура на першій стадії викликає розслаблення, за яким розвивається тривале скорочення значної амплітуди. Зважаючи на можливість ендотелій-залежного розслаблення інтактних судин (які було використано на даному етапі наших досліджень) можна припустити, що перша фаза пригнічення скорочення може бути пов'язаною з активацією TRPV4-каналів в ендотеліальних клітинах, тобто кальцій-залежним синтезом і

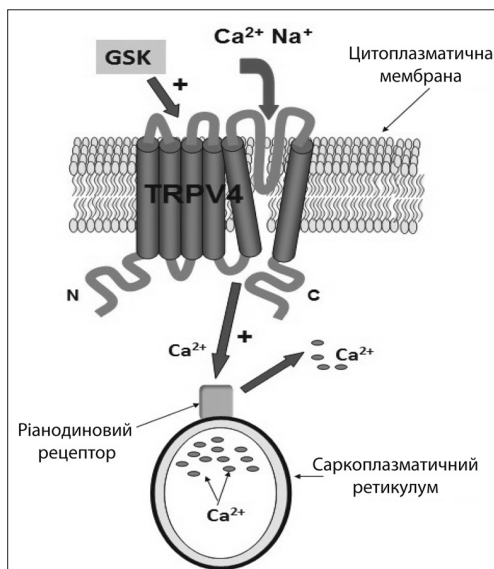


Рис. 3. Схематичне зображення процесів, що відбуваються в гладеньком'язовій клітині легених артерій внаслідок активації TRPV4-каналу (*N*-((1*S*)-1-[[4-((2*S*)-2-[[2,4-дигідрофеніл]сульфаніл]аміно]-3-гідроксипропанойл)-1-піперазиніл]карбоніл]-3-метилбутил)-1-бензотіофен-2-карбоксамідом [1])

вивільненням вазодилататорів ендотеліального походження, а друга фаза, тобто посилення скоротливої реакції на ФЕ, відбувається за рахунок активації TRPV4-каналів власне гладеньком'язових клітин, наслідком чого є додатковий вхід і вивільнення Ca^{2+} з депо міоцитів (рис. 3). Для перевірки цієї гіпотези потрібно виключити участь ендотеліальних TRPV4-каналів, і тому в наступних дослідках планується проведення аналогічних досліджень з використанням деендотелізованих судинних препаратів.

Висновки

Агоніст TRPV4-каналів GSK1016790A викликає складну двофазну скоротливу відповідь у попередньо скорочених ОЛА щура з інтактним ендотелієм.

Очевидно, що роль TRPV4-каналів у регуляції скорочення гладеньких м'язів ОЛА є багатопланою та потребує подальших всебічних досліджень. Це також передбачає перспективу їхнього використання як мішені для фармакологічної корекції судинної патології різного ґенезу.

1. TRP channels / Gees M., Owsianik G., Nilius B. [et al.] // *Comp. Physiol.* – 2012. – V. 2, № 1. – P. 563–608.
2. Nilius B. The transient receptor potential family of ion channels / Nilius B., Owsianik G. // *Genome Biol.* – 2011. – V. 12, № 3. – P. 218–229.
3. Nilius B. The puzzle of TRPV4 channelopathies / Nilius B., Voets T. // *EMBO Rep.* – 2013. – V. 14, № 2. – P. 152–163.
4. Nilius B. TRP channels in disease / Nilius B. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – V. 1772. – P. 805–812.
5. Pedersen S. F. TRP channels: an overview / Pedersen S. F., Owsianik G., Nilius B. // *Cell Calcium.* – 2005. – V. 38. – P. 233–252.
6. Ramsey I. S. An introduction to TRP channels / Ramsey I. S., Delling M., Clapham D. E. // *Annu. Rev. Physiol.* – 2006. – V. 68. – P. 619–647.
7. Sensing with TRP channels / Voets T, Talavera K, Owsianik G. [et al.] // *Nature Biol. Chem.* – 2005. – V. 1. – P. 85–92.
8. Venkatachalam K. TRP channels / Venkatachalam K., Montell C. // *Annu Rev Biochem.* – 2007. – V. 76. – P. 387–417.
9. Structure-function relationship of the TRP channel superfamily / Owsianik G., D'Hoedt D., Voets T. [et al.] // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* – 2006. – V. 156. – P. 61–90.
10. Clapham D. E. TRP channels as cellular sensors / Clapham D. E. // *Nature.* – 2003. – V. 426. – P. 517–524.
11. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature and structure-function relationships of transient receptor potential channels / Clapham D. E., Julius D., Montell C. [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2005. – V. 57. – P. 427–450.
12. GSK1016790A, a novel and potent TRPV4 channel agonist induces urinary bladder contraction and hyperactivity: part I / Thorneloe K. S., Sulpizio A. C., Lin Z. [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2008. – V. 326. – P. 432–442.
13. Determinants of 4alpha-phorbol sensitivity in transmembrane domains 3 and 4 of the cation channel TRPV4 / Vriens J., Owsianik G., Janssens A. [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2007. – V. 282. – P. 12796–12803.
14. Liedtke W. Abnormal osmotic regulation in *trpv4*^{-/-} mice / Liedtke W., Friedman J. M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – V. 100. – P. 13698–13703.
15. Cell swelling, heat, and chemical agonists use distinct pathways for the activation of the cation channel TRPV4 / Vriens J., Watanabe H., Janssens A. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – V. 101. – P. 396–401.
16. Zholos A. V. TRP channels in vascular disorders / Zholos A. V., Curtis T. M. // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2013. – V. 13. – P. 295–309.
17. Implication of the ryanodine receptor in TRPV4-induced calcium response in pulmonary arterial smooth muscle cells from normoxic and chronically hypoxic rats / Dahan D., Ducret T., Quignard J.-F. [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2012. – V. 303. – P. L824–L833.
18. TRPV4 channel contributes to serotonin-induced pulmonary vasoconstriction and the enhanced vascular reactivity in chronic hypoxic pulmonary hypertension / Xia Y., Fu Z., Hu J. [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2013. – V. 305. – P. C704–C715.
19. Atomic Force Microscopy Reveals the Alternating Subunit Arrangement of the TRPP2-TRPV4 Heterotetramer / Stewart A., Smith G., Sandford R. [et al.] // *Biophys. J.* – 2010. – V. 99. – P. 790–797.
20. Evidence for a functional role of endothelial transient receptor potential V4 in shear stress-induced vasodilatation / Kohler R., Heyken W. T., Heinau P. [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – V. 26. – P. 1495–1502.

Д. О. Дринь, М. І. Мельник, І. В. Кізуб, О. В. Жолос, А. І. Соловйов
Функціональна експресія та роль TRPV4-каналів у регуляції тонуусу
легеневих артерій щура

TRPV4-канали – неселективні катіонні канали, які експресовані в різних органах і різних типах клітин, і характеризуються полімодальною регуляцією активності. TRPV4-канали активуються теплом, механічним розтягненням, зміною осмотичного тиску, різними хімічними сполуками. TRPV4-канали широко експресовані в серцево-судинній системі; зі зміною їхньої функціональної експресії пов'язують ряд патологій. Так, існують дані про те, що за хронічної гіпоксичної легеневої гіпертензії відбувається гіперекспресія цих каналів у клітинах стінки легених артерій. Тому останнім часом TRPV4-канали розглядають як перспективну мішень дії фармакологічних засобів для подолання певних захворювань.

Мета дослідження – вивчити вплив селективного агоніста TRPV4-каналів GSK1016790A на скоротливу активність гладеньких м'язів основних легених артерій (ОЛА) щура, а також визначити, чи можуть TRPV4-канали бути фармакологічною мішенню для регуляції тонуусу та усунення дисфункцій легених артерій.

З використанням методу тензометричної реєстрації скоротливої активності ізольованих судинних препаратів було показано, що селективний агоніст TRPV4-каналів GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) викликав двофазну скоротливу відповідь попередньо скорочених фенілефрином (ФЕ, 10 мкмоль/л) ОЛА. Ця скоротлива відповідь складалася з транзитornoї фази розслаблення амплітудою ($58,8 \pm 10,8$) % та фази тонічного скорочення, що складала ($125,2 \pm 9,2$) % ($n = 8$) від рівня скорочення, викликаного ФЕ.

Отримані результати свідчать про наявність функціональної експресії TRPV4-каналів в гладеньком'язових клітинах ОЛА щурів та їхню участь у регуляції тонуусу цих судин. Також отримані результати вказують на те, що TRPV4-канали можна розглядати як перспективну мішень для фармакологічної корекції судинних захворювань.

Ключові слова: іонні канали, канали транзійтного рецепторного потенціалу, TRPV4, гладенькі м'язи, легеневі артерії

Д. О. Дринь, М. И. Мельник, И. В. Кизуб, А. В. Жолос, А. И. Соловьев
Функциональная экспрессия и роль TRPV4-каналов в регуляции тонууса
легочных артерий крысы

TRPV4-каналы – неселективные катионные каналы, которые экспрессируются в разных органах и разных типах клеток, и характеризуются полимодальной регуляцией их активности. TRPV4-каналы активируются теплом, механическим растяжением, изменением осмотического давления, разными химическими соединениями. TRPV4-каналы широко экспрессированы в сердечно-сосудистой системе, а также с изменениями их функциональной экспрессии связывают ряд патологий. Согласно последним данным, при хронической гипоксической легочной гипертензии эти каналы гиперэкспрессируются в клетках стенок легочных артерий. Поэтому в последнее время TRPV4-каналы рассматривают как перспективную мишень воздействия фармакологических препаратов для лечения некоторых заболеваний.

Цель исследования – изучить влияние селективного агониста TRPV4-каналов GSK1016790A на сократительную активность гладких мышц основных легочных артерий (ОЛА) крысы, а также выяснить, могут ли TRPV4-каналы быть использованы в качестве фармакологической мишени для регуляции тонууса и устранения дисфункций легочных артерий.

С помощью метода тензометрической регистрации сократительной активности изолированных сосудистых препаратов было показано, что селективный агонист TRPV4-каналов GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) вызывал двуфазный сократительный ответ предварительно сокращенных фенилэфрином (ФЭ, 10 мкмоль/л) ОЛА. Сократительный ответ состоял из транзитornoї фази расслабления амплитудой ($58,8 \pm 10,8$) % и фазы тонического сокращения, которая составляла ($125,2 \pm 9,2$) % ($n = 8$) от уровня сокращения, вызванного ФЭ.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии функциональной экспрессии TRPV4-каналов в гладкомышечных клетках ОЛА крыс и об их участии в регуляции тонууса этих сосудов. Также полученные результаты говорят о том, что TRPV4-каналы можно рассматривать в качестве перспективных мишеней для фармакологической коррекции ряда сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: ионные каналы, каналы транзійтного рецепторного потенціала, TRPV4, гладкие мышцы, легочные артерии

D. Dryn, M. Melnyk, I. Kizub, A. Zholos, A. Soloviev
Functional expression and role of TRPV4-channels in the regulation
of the rat pulmonary artery vascular tone

TRPV4-channels are nonselective cation channels that are expressed in a wide variety of organs and cells, which can be activated in a polymodal manner. TRPV4-channels are activated by a wide variety of

stimuli, including warm temperature, sheer stress, abnormal osmolarity, pressure, chemical substances. TRPV4-channels are widely distributed in the cardiovascular system and their functional expression could be critical in some diseases. Recent evidence suggests that in chronic hypoxic pulmonary hypertension TRPV4-channels are overexpressed in pulmonary artery smooth muscle. Thus, TRPV4-channels could be used as a target for pharmacological modulation in the treatment of some vascular diseases.

The aim of this study was to investigate the effect of TRPV4-channels highly selective activator GSK1016790A on the rat main pulmonary artery (MPA) smooth muscle contractile activity, and to determine whether TRPV4-channels can be used as a target for the pharmacological treatment of pulmonary artery dysfunction as well.

Using tensometrical recording of vascular smooth muscle rings contractile activity, biphasic contractile response to the selective agonist GSK1016790A (0,3 μ M) of precontracted by phenylephrine (PhE, 10 μ M) MPA was shown. This contractile response consisted of an initial transient relaxation phase with the mean amplitude of $(58,8 \pm 10,8) \%$ relative to the amplitude of the PhE-induced contraction, followed by the second tonic contractile phase with an amplitude of $(125,2 \pm 9,2) \%$ ($n = 8$) of the PhE-evoked contraction.

The data obtained show that TRPV4-channels are functionally expressed in the rat MPA smooth muscle and that they have a dual role in MPA tone regulation. These findings propose TRPV4 as a novel promising target for pharmacological correction of some vascular diseases.

Key words: ion channels, transient receptor potential channels, TRPV4, smooth muscle, pulmonary artery.

Надійшла: 08.05.2015 р.

Контактна особа: Мельник Марія Ігорівна, провідний інженер, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 93 919 26 21. Електронна пошта: gribovamari@gmail.com

Л. В. Іванов¹, Н. Т. Картель¹, А. Н. Ляпунов², О. А. Нардід³,
Я. О. Черкашина³, Л. В. Деримедвідь⁴, І. А. Кирилюк⁵

Вивчення механізмів цитотоксичності низки гідрофільних полуксамерів методом спінових зондів

¹Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка Національної академії наук України, м. Київ

²Інститут монокристалів Національної академії наук України, м. Харків

³Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, м. Харків

⁴Національний фармацевтичний університет, м. Харків

⁵Новосибірський інститут органічної хімії СБ Російської академії наук, м. Новосибірськ

Ключові слова: полуксамери,
поліпропіленгліколь, спінові зонди,
мікрів'язкість мембран

Синтетичні амфіфільні блок-сополімери привернули увагу біохіміків ще тоді, коли 25 років тому було виявлено, що триблочні сополімери зі структурою поліетиленгліколь (ПЕГ) – поліпропіленгліколь (ППГ) – поліетиленгліколь (полуксамер, проксанол або плуронік) здатні знижувати стійкість ракових клітин до ліків (множинна лікарська стійкість, МЛС), пригнічуючи вихід ліків із клітини й тим самим підвищувати ефективність хіміотерапії [1]. Розроблено лікарську форму SP1049C, що становить суміш полуксамерів з протипухлинним антибіотиком доксорубіцином, яка успішно пройшла другу фазу клінічних випробувань для лікування пацієнтів із раком стравоходу [2].

Цитотоксична концентрація неіоногенного амфіфільного блок-сополімеру полуксамеру визначається масовою часткою гідрофільного блоку – гідрофільно-ліпофільним балансом (ГЛБ): чим більше гідрофільний полімер, тим він менш токсичний. Виявлено, що загальна гідрофобність макромолекули блок-сополімеру полуксамеру й обсяг його гідрофобного блоку (ППГ) зумовлюють здатність пригнічувати стійкість ракових клітин до протипухлинних препаратів доксорубіцину [3].

При дослідженні взаємодії полуксамеру з модельною бішаровою мембраною встановлено, що ППГ блок вбудо-

вується в область залишків жирних кислот, а блок ПЕГ експонується у водну фазу [4]. Додавання полуксамеру з довжиною гідрофобного блоку (ППГ), що відповідає товщині мембрани, викликало значне збільшення відстані між шарами у мультиламелярній фазі. Полуксамери, які містять короткі ланцюги пропіленгліколю (15 ланок), що не вбудовувалися в бішар, не викликали ніяких змін у багатоваріаційній структурі [5].

Отримані результати переконливо свідчать на користь того, що гідрофобний ППГ блок полуксамеру локалізується в гідрофобній області модельної ліпідної мембрани, а максимальна кількість полімеру, що здатна зв'язатися з ліпідним бішаром, становить близько 1 макромолекули на 10–20 молекул ліпіда [6–8].

У роботі з використанням полуксамеру міченого тритієм і кон'югованого з фотоактивованою міткою – пара-1-трифторметилдіазириніл-бензойної кислоти, було показано, що при інкубації цього кон'югату з клітинами він зв'язується з ліпідами, тобто так само, як і у випадку штучних мембран [9]. Зв'язування полуксамеру з ліпідами клітинної мембрани призводить до зниження мікрів'язкості мембран клітин.

Показано, що зниження МЛС ракових клітин до протипухлинних препаратів під дією полуксамеру пов'язано з інгібуванням ключового мембранного білка ракових клітин Р-gr – Р-глікопротеїну, активність якого дуже чутлива до стану найближчого ліпідно-

го оточення [10], а сам механізм інгібування білка Р-gr пов'язаний з взаємодією полксамеру з ліпідами мембран ракових клітин і зниженням мікрров'язкості мембран (розпушенням мембран), при якому порушується конформація макромолекули Р-gr [11]. Збільшення рухливості ліпідів уперше було показано на нормальних лімфоцитах і ракових клітинах у культурі в експериментах з вимірювання анізотропії флуоресценції зонда 2,4,6-дифенілгексатрієна (ДФГТ), що свідчило про зменшення мікрров'язкості клітинних мембран. Низка дослідників вважають, що було зафіксовано зміну мікрров'язкості саме зовнішньої мембрани клітин, оскільки за даними літератури ДФГТ вбудовується в основному в плазматичну мембрану [12].

Запропоновано два можливих механізми інгібування мембранного білка Р-gr ракових клітин під дією полксамеру: зниження активності АТФ-залежного мембранного білка Р-gr за рахунок порушення функціонування мітохондрій клітин і порушення активної конформації макромолекули Р-gr у ліпідах мембран внаслідок зниження мікрров'язкості мембран (розпушення мембран) ракових клітин під дією полксамеру [3].

Порівняння полксамерів різного складу показало, що ступінь викликаного ними пригнічення МЛС залежить від гідрофільно-ліпофільного балансу й довжини гідрофобного блоку ППГ [26]. Максимальний ефект чинили полксамери з середніми значеннями ГЛБ (15–16 ланок), які відповідають відносно короткому блоку ПЕГ (30–56 ланок) і середній довжині гідрофобних блоків ППГ (30–60 ланок). Гідрофільні полксамери, масова частка ПЕГ у яких становить 70–80 %, а ГЛБ = 20–29, практично не впливали на стійкість клітин [26]. Проте останнім часом у літературі стали з'являтися роботи, що демонструють вплив цих полксамерів на активність Р-gr. У суміші з іншими полксамерами вони здатні збільшувати поглинання ліків клітинами [27].

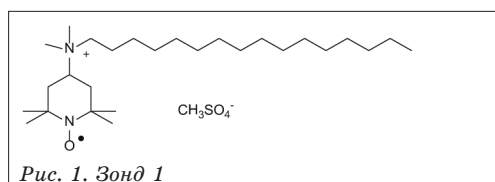
У зв'язку з цим стає актуальним вивчення механізмів цитотоксичності й пригнічення МЛС ракових клітин гідрофільними полксамерами з великими ПЕГ блоками, дослідження яких були явно недостатніми. Не зовсім ясна роль гідрофільного блоку (ПЕГ) полксамеру при його зв'язуванні з мембранами клітин і впливу гідрофільного блоку на структуру мембран як ракових, так і інших клітин. Гіпотеза про нейтральність і нетоксичність гідрофільного блоку полксамеру (ПЕГ) відносно мембран різних клітин не узгоджується з нашим власним тривалим досвідом робіт щодо впливу ПЕГ різної молекулярної маси на білки й мембрани клітин.

Мета дослідження – експериментальне визначення впливу гідрофільних полксамерів різної структури на мікрров'язкість мембран еритроцитів людини й щура методом спінових зондів, а також впливу високомолекулярних ПЕГ як гідрофільних блоків полксамеру на мембрани різних клітин і білки різної структури. Це дозволить виявити додаткові нові механізми цитотоксичності та пригнічення МЛС ракових клітин не тільки для гідрофільних полксамерів, а й полксамерів із середніми значеннями ГЛБ.

Матеріали та методи. У роботі використано метод спінових зондів, у якому за спектрами електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) стабільних нітроксильних радикалів на основі пальмітинової кислоти (що дозволяє їм вбудовуватися в ліпофільний шар мембран еритроцитів) оцінювали час кореляції броунівської обертальної дифузії зондів у мембранах клітин.

Для вивчення мікрров'язкості мембран еритроцитів у присутності розчинників і полімерів був обраний спіновий зонд 1 на основі пальмітинової кислоти. Зонд 1 – нітроксильний радикал 4-(N, N-диметил-N-гексадециламонію) – ТЕМПОЛ містить у своєму складі четвертинний амонійний фрагмент, завдяки чому може розглядатися як іоногенна ПАР (рис. 1).

Для вивчення мікрров'язкості мембран еритроцитів у присутності розчинників і полімерів був обраний спіновий зонд 1 на основі пальмітинової кислоти. Зонд 1 – нітроксильний радикал 4-(N, N-диметил-N-гексадециламонію) – ТЕМПОЛ містить у своєму складі четвертинний амонійний фрагмент, завдяки чому може розглядатися як іоногенна ПАР (рис. 1).



Уведення зонда 1, синтезованого за схемою [13, 14], у водну суспензію еритроцитів здійснювали додаванням концентрованого розчину зонда в ДМСО таким чином, щоб кінцева концентрація ДМСО у суспензії еритроцитів була в межах 0,5–1 %. Реєстрацію спектрів ЕПР здійснювали на радіоспектрометрі «ESR Spectrometer CMS8400». Оцінку мікров'язкості мембран еритроцитів проводили на основі обробки інтенсивності й ширини ліній триплету ЕПР спектрів нітроксильних радикалів – спінового зонда 1, що знаходиться в ліпідному бішарі мембран еритроцитів [15, 16]. Для розрахунку часу кореляції броунівського обертальної дифузії зонда (τ) використовували такі параметри спектрів: ширину центральної компоненти (ΔH_0), інтенсивність компонентів спектра ЕПР (h_0, h_{+1}, h_{-1}) з магнітним квантовим числом ядра ^{14}N ($M = 0, +1, -1$), ізотропну константу розщеплення ($A_{\text{изо}}$). Базовим рівнянням для оцінки в'язкості будь-яких середовищ є рівняння Стокса-Ейнштейна:

$$\tau_c = 4\pi a^3 \cdot \eta / 3kT, \quad (1)$$

де: τ_c – час кореляції спінового зонда (час, за який спіновий зонд розгортається на 1 радіан, 57°), η – в'язкість середовища, a – ефективний радіус спінового зонда, який визначають за спектрами ЕПР [15, 16].

$$1/\tau_{c(+1)} = \frac{2 \cdot 10^8}{[(h_0/h_{+1})^{1/2} - 1] \Delta H_0 \text{ c}^{-1}} \quad (2a)$$

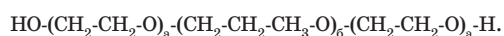
$$1/\tau_{c(-1)} = \frac{3,6 \cdot 10^9}{[(h_0/h_{-1})^{1/2} - 1] \Delta H_0 \text{ c}^{-1}} \quad (2б)$$

$$\tau_{c(+1/-1)} = 6,65 \cdot 10^{-10} [(h_{+1}/h_{-1})^{1/2} - 1] \Delta H_{+1} \text{ c}^{-1} \quad (2в)$$

Враховуючи структуру спінового зонда 1, а також анізотропне обертання його навколо довгої осі молекули, при аналізі результатів впливу полксамеру на мікров'язкість мембран еритроцитів слід, у першу чергу, спиратися на час кореляції $\tau_{c(+1/-1)}$, який враховує анізотропію спектрів ЕПР і анізотропне обертання зондів у ліпідному бішарі мембран клітин [15, 16].

Еритроцити щурів для досліджень отримували з крові щурів самців триразовим відмиванням фізіологічним розчином (0,89 % хлориду натрію), приготованим на натрій-фосфатному буфері (5 ммоль/л, pH 7,2–7,4), шляхом центрифугування при 3000 об/хв протягом 20 хв. Еритроцити людини отримували зі свіжоконсервованої донорської крові, заготовленої на глюцінговому консерванті. Кров отримували на Харківській обласній станції переливання крові. З метою уніфікації об'єкта в роботі використовували кров II групи. Після видалення плазми еритромасу тричі відмивали шляхом центрифугування при 1500 g протягом 3 хв у 10-разовому об'ємі фізіологічного розчину (0,15 моль/л хлориду натрію, 0,01 моль/л трис-буфер, pH 7,4).

Вивчали наступні гідрофільні полксамери – 188, 237, 268, 338 і 407 (табл. 1), а також ПЕГ-1500, ПЕГ-2000 і ПЕГ-4000, які можуть бути представлені наступною загальною формулою (European pharmacopoeia 7.0):



Номери полксамерів містять 3 цифри – перші дві цифри, помножені на 100, приблизно відповідають молекулярній масі гідрофобного ППГ блоку, а остання цифра, помножена на 10, показує процентний вміст гідрофільного ПЕГ блоку. 30 % або 15 % водні розчини полксамерів вводили до суспензії еритроцитів шляхом додавання в завись еритроцитів по краплях у різних співвідношеннях.

Результати та їх обговорення. Спіновий зонд 1 вбудовується в мембрану подібно до основного фосфоліпиду мембран клітин фосфатидилхоліну, нітроксильний фрагмент зонда 1 з неспареним електроном знаходиться в ліпідному оточенні мембран [13, 14]. Конформаційна рухливість алкільних хвостів фосфоліпідів зростає при віддаленні від поверхні вглиб мембрани (в'язкість падає) [17]. Нітроксильний фрагмент зонда 1 «затиснутий» між фосфоліпідними головками в мембрані, тому обертальна рухливість зонда 1 може бути вельми чутлива до зміни щільності упаковки фосфоліпідів мембран клітин

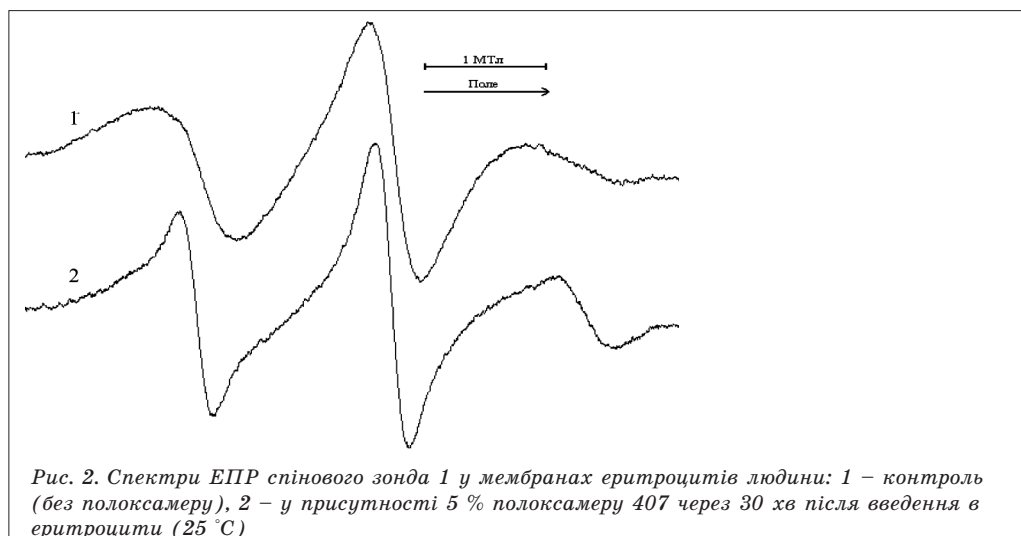
Характеристики полуксамерів

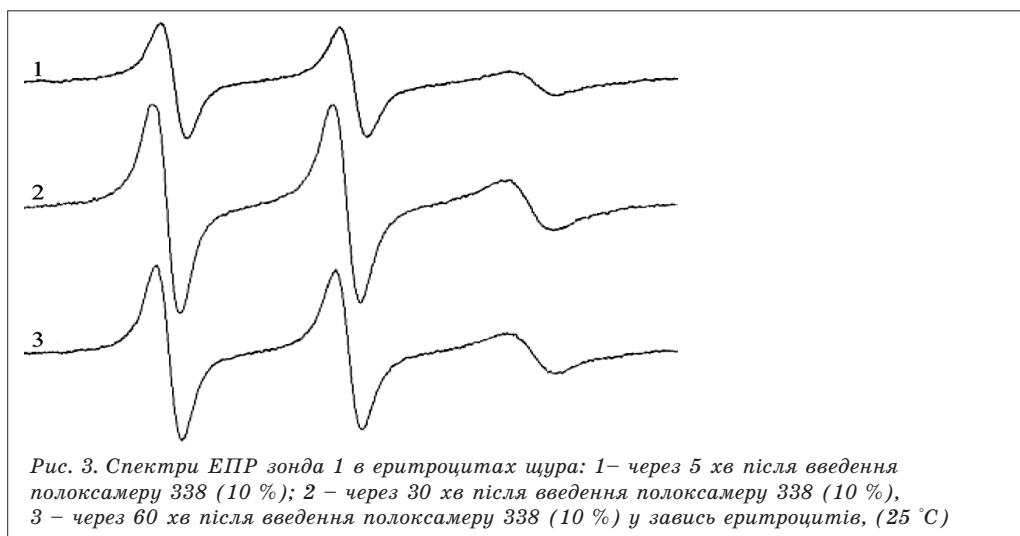
Тип полуксамеру	Ланки етиленоксиду (а)	Ланки пропіленоксиду (б)	Вміст оксиетилену, %	Середня молекулярна маса
188	75–85 (мол. м. 3500)	25–30	79,9–83,7	7680–9510
237	60–68 (мол. м. 2800)	35–40	70,5–74,3	6840–8830
338	137–146 (мол. м. 6200)	42–47	81,4–84,9	12 700–17 400
407	95–105 (мол. м. 4400)	54–60	71,5–74,9	9840–14 600

при зв'язуванні полуксамеру з поверхнею мембран еритроцитів. Вбудовування ланок етиленгліколю та пропіленгліколю полуксамеру між молекулами фосфоліпідів мембран може змінювати щільність упаковки фосфоліпідів у мембрані (мікрів'язкість) і порушувати рідкокристалічну структуру мембран. Аналізуючи вплив досліджуваних полуксамерів на мікрів'язкість мембран еритроцитів необхідно враховувати те, що осмотично активні полуксамери можуть одночасно викликати різноспрямовані ефекти в мембрані клітин: дегідратацію та ущільнення клітин, порушення рідкокристалічної структури мембран клітин, порушення білок-ліпідних взаємодій у мембрані клітин.

На рисунках 2 та 3 наведено спектри ЕПР спінового зонда 1 у мембранах еритроцитів людини та щура в присут-

ності деяких полуксамерів. Форма і параметри спектрів ЕПР (h_0/h_{-1}), які пов'язані з оберальною рухливістю зонда в мембрані, при введенні полуксамеру в еритроцити помітно відрізняються від таких у контролі. Досліджувані полуксамери мають по два великих гідрофільних ПЕГ блоки – молекулярною масою від 2800 до 6250. Вище було відзначено, що полуксамери взаємодіють з модельними мембранами клітин (ліпосоми) за допомогою гідрофобного ППГ блоку, а гідрофільні ПЕГ блоки спрямовані назовні у водне середовище і мало токсичні [4–8]. Для з'ясування цитотоксичності ПЕГ блоків гідрофільних полуксамерів, а також їхньої можливої ролі у пригніченні МЛС ракових клітин в таблицях 2 і 3 наведено дані щодо впливу високомолекулярного ПЕГ-1500 на параметри оберальної рухливості спінового зонда 1





у мембранах еритроцитів, які пропорційні мікрров'язкості мембран клітин.

Результати впливу полімеру ПЕГ-1500 на мембрани еритроцитів людини наведено в таблицях 2 та 3. Аналіз даних таблиць 2 і 3 показав, що дія полімеру ПЕГ-1500 на мембрани еритроцитів людини полягає в невеликому, але стабільному зниженні мікрров'язкості мембран для всіх параметрів

часу кореляції зонда в мембрані протягом 1 год, незважаючи на велику в'язкість самого ПЕГ-1500.

У роботах кріобіологів, де ПЕГ-1500 використовують як кріопротектор, показано, що при додаванні ПЕГ-1500 до суспензії еритроцитів утворюється його міцний комплекс з мембраною, який при відмиванні ПЕГ-1500 викликає розрив клітин (гемоліз) [18, 19]. У

Таблиця 2

Значення величин часу кореляції, розрахованих за спектрами ЕПР зонда 1 у мембранах еритроцитів людини, у присутності ряду полуксамерів і ПЕГ за температури 25 °С

Умова досліджу	$\tau_{-1} \cdot 10^{10}, \text{с}$	$\tau_{+1/-1} \cdot 10^{10}, \text{с}$
Контроль	17,9	70,3
ПЕГ 1500, 10 %, 10 хв	17,7	68,5
ПЕГ 1500, 10 %, 30 хв	15,6	67,2
ПЕГ 1500, 10 %, 60 хв	15,0	60,1
Полуксамер 407, 5 %, 10 хв	11,1	28,4
Полуксамер 407, 5 %, 30 хв	8,1	18,4
Полуксамер 407, 5 %, 60 хв	9,0	22,3
Полуксамер 338, 5 %, 10 хв	13,2	41,8
Полуксамер 338, 5 %, 30 хв	10,9	24,2
Полуксамер 308, 5 %, 60 хв	10,7	29,3
Полуксамер 237, 5 %, 10 хв	20,0	74,3
Полуксамер 237, 5 %, 30 хв	17,7	85,0
Полуксамер 237, 5 %, 60 хв	15,6	71,4
Полуксамер 188, 5 %, 10 хв	16,5	68,4
Полуксамер 188, 5 %, 30 хв	16,0	58,7
Полуксамер 188, 5 %, 60 хв	14,5	56,3

Значення величин часу кореляції, розрахованих за спектрами ЕПР зонда 1 у мембранах еритроцитів щурів, у присутності ряду полуксамерів і ПЕГ за температури 25 °С

Умова досліджу	$\tau_{-1} \cdot 10^9, \text{с}$	$\tau_{+1/-1} \cdot 10^9, \text{с}$
Контроль	1,5	6,6
ПЕГ 150,0 10 %, 5 хв	1,6	5,5
ПЕГ 1500, 10 %, 30 хв	1,4	6,4
ПЕГ 1500, 10 %, 60 хв	1,6	6,7
Полуксамер 407, 5 %, 5 хв	1,0	2,7
Полуксамер 407, 5 %, 30 хв	0,9	2,4
Полуксамер 407, 5 %, 60 хв	1,1	2,5
Полуксамер 338, 5 %, 5 хв	1,2	3,3
Полуксамер 338, 5 %, 30 хв	1,2	4,3
Полуксамер 338, 5 %, 60 хв	1,3	3,7
Полуксамер 237, 5 %, 5 хв	1,7	5,7
Полуксамер 237, 5 %, 30 хв	1,6	5,8
Полуксамер 237, 5 %, 60 хв	1,6	6,7
Полуксамер 188, 5 %, 5 хв	1,7	6,2
Полуксамер 188, 5 %, 30 хв	1,7	5,3
Полуксамер 188, 5 %, 60 хв	1,6	6,8

той самий час введення полімеру ПЕГ-1500 в еритроцити щурів призводить до незначних коливань мікров'язкості мембран клітин в ту чи іншу сторону в межах помилки експерименту (табл. 3), що свідчить про більшу резистентність мембран еритроцитів щурів до високомолекулярних ПЕГ і це, мабуть, пов'язано з різним фосфоліпідним складом мембран еритроцитів людини та щурів [20]. Отримані результати показують, що гідрофільні ПЕГ блоки полуксамеру в деяких випадках можуть впливати на структуру мембран не модельних, а живих клітин.

Уведення 5 % полімеру полуксамеру 407 в еритроцити людини призводить до дуже сильного падіння мікров'язкості мембран еритроцитів вже протягом години – для параметра τ_{-1} максимально на 40–50 %, а для параметра $\tau_{+1/-1}$ – максимально на 60–75 %, що, мабуть, є критичним для мембран еритроцитів (табл. 2). Дія полуксамеру 407 на мікров'язкість мембран клітин щурів також значна, але трохи нижча – максимальне падіння мікров'язкості для параметра τ_{-1} становить 37 %, а для

параметра $\tau_{+1/-1}$ – трохи більше 60 %. Значне падіння мікров'язкості мембран еритроцитів спостерігається й при введенні в еритроцити людини полуксамеру 338 – для параметра τ_{-1} максимально на 40 %, а для параметра $\tau_{+1/-1}$ – максимально на 65 % (табл. 2).

Проте присутність полуксамеру 338 в еритроцитах щурів, як і у випадку полуксамеру 407, призводить до помітно меншого падіння мікров'язкості мембран клітин – максимальне падіння мікров'язкості для параметра τ_{-1} становить 20 %, а для параметра $\tau_{+1/-1}$ – 50 %. І в цьому випадку еритроцити щурів більш стійкі (резистентні) до дії цитотоксичного проксанолу 338, ніж клітини людини (табл. 3).

Дія полуксамеру 237 на еритроцити людини характеризується невеликим збільшенням мікров'язкості мембран клітин (табл. 2), а дія полуксамеру 237 на еритроцити щурів не викликає помітних, достовірних змін параметрів τ_{-1} і $\tau_{+1/-1}$.

Введення полуксамеру 188 в еритроцити людини призводить до невеликого поступового падіння мікров'язкості

мембран клітин протягом 1 год до – 20 %, чого не можна сказати про дію полоксамеру 188 на мембрани еритроцитів щурів, де спостерігаються незначні зміни мікрів'язкості мембран протягом 1 год в ту або іншу сторону.

На рисунку 4 представлені власні, раніше отримані дані про вплив різних фармацевтичних допоміжних речовин (ФДР) на броунівську обертальну рухливість спіні міченого амідру пальмітинової кислоти в ліпосомах з фосфатидилхоліну, яка пропорційна текучості мембран ліпосом [21]. По вісі ординат – логарифм частоти обертання ν зонда в мембрані ліпосом, пропорційний текучості мембран, а на вісі абсцис – концентрація розчинника. Графік показує, що додавання в ліпосоми полоксамеру 268 призводить до сильного збільшення текучості (зменшення в'язкості) мембран ліпосом, ефект зростає зі збільшенням концентрації полоксамеру. Ці дані підтверджують вищенаведені результати та дані зарубіжних дослідників, виконані на модельних мембранах з інших фосфоліпідів.

Взаємодію ПЕГ-1500 з мембраною ліпосом із фосфатидилхоліну вивчали за допомогою спіні міченого стероїду, спектр ЕПР якого в ліпосомах представляє суперпозицію широкого, загальмованого сигналу ЕПР, відповідного зонда в мембрані, і невеликої вузької компоненти у високопольній частині спектра, відповідно швидкому обертанню у воді міченого стероїду

(рис. 5). Уведення ПЕГ-1500 у ліпосоми супроводжується помітним збільшенням інтенсивності вузького сигналу від зонда у воді, що вказує на витиснення міченого стероїду з мембрани ліпосом у воду внаслідок зв'язування ПЕГ-1500 з мембраною ліпосом.

Аналогічний ефект був отриманий при вивченні зв'язування ПЕГ-1500 із мембраною мітохондрій – введення в мітохондрії ПЕГ-1500 супроводжувалося сильним зростанням вузької компоненти спектра ЕПР міченого стероїду, що вказувало на витиснення молекул міченого стероїду з мембрани в позаклітинну рідину при зв'язуванні ПЕГ-1500 із мембраною цих клітин (рис. 6).

Відомо, що ПЕГ різної молекулярної маси як гідрофільні блоки полоксамеру мають яскраво виражені осмотичні властивості [1], не враховувати це при аналізі впливу полоксамеру на мембрани клітин, у тому числі ракових, не можна.

На рисунку 7 надано власні дані щодо впливу ПЕГ на в'язкість внутрішньоклітинної води еритроцитів людини з використанням водорозчинного спінового зонда ТЕМПОЛ, що знаходиться в цитозолі клітин еритроцитів [22].

По вісі ординат – параметр спектра ЕПР, пропорційний в'язкості внутрішньоклітинної рідини еритроцитів (цитозолу), по вісі абсцис – час експозиції розчинника з еритроцитами (хв). Додавання ПЕГ-2000 до еритроцитів призводить до повільного збільшення

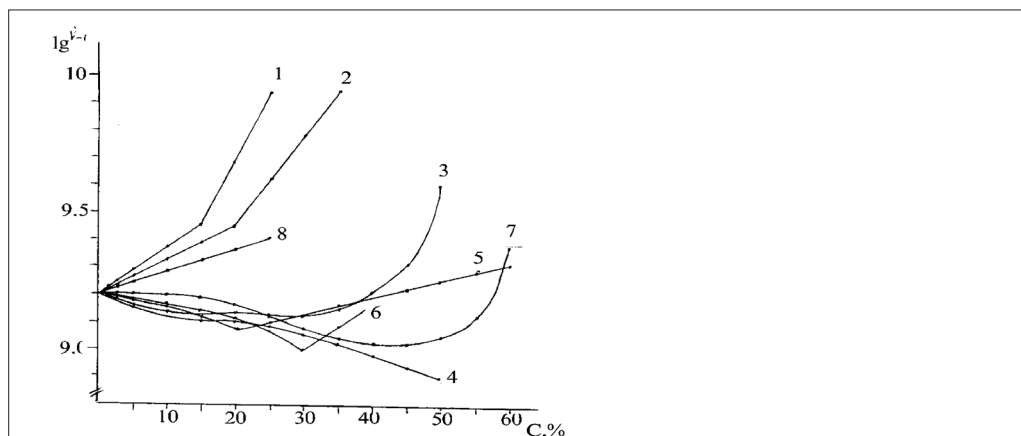


Рис. 4. Залежність параметра ν_1 спектра ЕПР спіні міченого амідру пальмітинової кислоти від концентрації розчинника: 1 – ізопропіловий спирт; 2 – етиловий спирт; 3 – пропіленгліколь; 4 – гліцерин; 5 – ПЕГ-400; 6 – ПЕГ-1500; 7 – димексид; 8 – полоксамер 268.

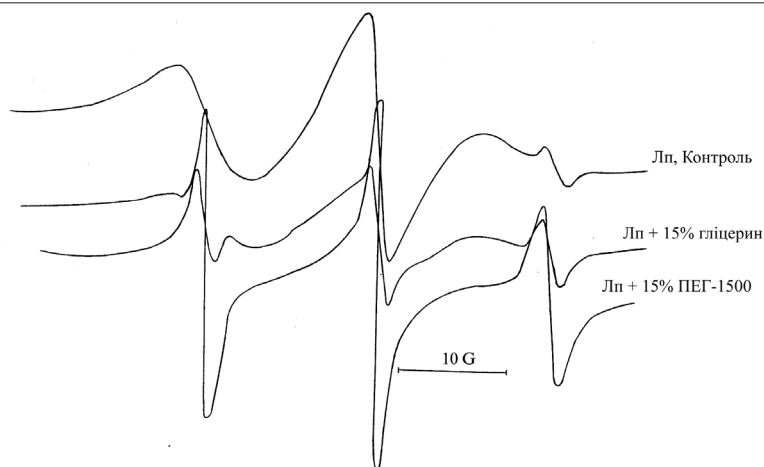


Рис. 5. Спектри ЕПР спин-міченого стероїду ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) у суспензії ліпосом за впливу гліцерину (15 %) та ПЕГ-1500 (15 %). Лп – ліпосоми

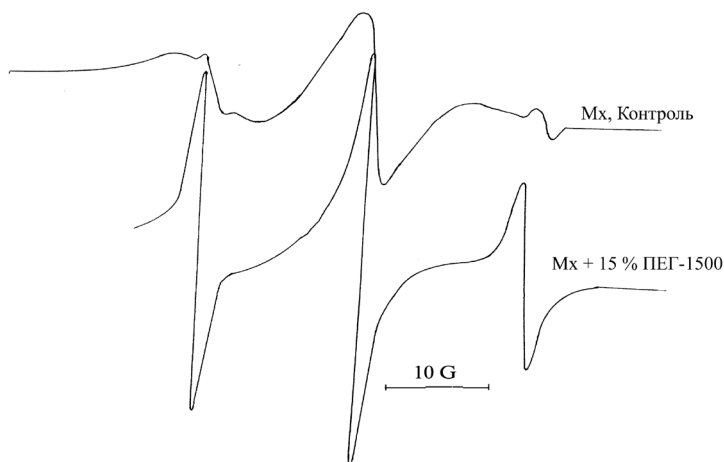


Рис. 6. Спектри ЕПР спин міченого стероїду ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) у мітохондріях клітин печінки щурів у присутності 15 % ПЕГ-1500. Мх – мітохондрії

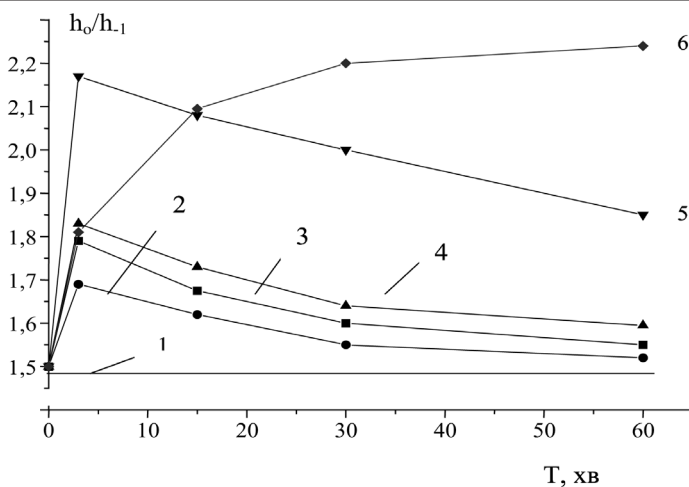


Рис. 7. Параметр h_0/h_{-1} обертальної рухливості водорозчинного зонда ТЕМПОЛ у цитозолі еритроцитів людини за впливу розчинників (15%): 1 – контроль; 2 – пропіленгліколь; 3 – гліцерин; 4 – ПЕГ-300; 5 – ПЕГ-600; 6 – ПЕГ-2000.

в'язкості цитозолу протягом 1 год і виходить на плато внаслідок стійкої в часі дегідратації клітини. Дегідратація клітин може призводити до зменшення внутрішньоклітинного об'єму і зміни форми клітин. Для низькомолекулярних ПЕГ початковий стрибок в'язкості цитозолу через 1 год знижується до норми внаслідок дифузії цих ПЕГ крізь мембрани всередину клітин і вирівнюванні осмотичного тиску зсередини та ззовні [22].

Приведені дані показують, що ПЕГ ефективно взаємодіють з мембранами різних клітин, викликаючи серйозні зміни в структурі ліпідного бішару мембран, проникності мембран, дегідратацію клітин, зміни внутрішнього об'єму клітин, аж до порушення цілісності мембран. Гідрофільні ПЕГ блоки полуксамерів, мабуть, можуть крім ліпідів зв'язуватися та впливати на мембранні поверхневі білки ракових та інших клітин, а також впливати на білково-ліпідні взаємодії в мембрані.

На рисунку 8 наведено спектр ЕПР спіна міченого прогестерону в розчині сироваткового альбуміну бика (САБ), який зв'язується з однією з трьох гідрофобних порожнин (кишених), розташованих на поверхні макромолекули САБ і призначених для перенесення в крові гідрофобних ендогенних субстратів.

При цьому спектр ЕПР має вузьку компоненту в низькопольовій частині спектра, відповідну зонду у воді, широ-

кий сигнал ЕПР відповідає міченому прогестерону, який дуже повільно обертається в гідрофобній кишені САБ. Додавання високомолекулярних ПЕГ-1500, ПЕГ-2000 і ПЕГ-4000 до САБ призводить до збільшення інтенсивності вузької компоненти спектра ЕПР, тобто до витіснення міченого прогестерону у воду внаслідок зв'язування молекул ПЕГ із гідрофобною порожниною білка [22]. Ці дані свідчать, що молекули ПЕГ можуть конкурувати з ліпідами за гідрофобні порожнини мембранних білків і послабляти білково-ліпідні взаємодії у мембранах клітин.

У більш ранніх роботах нами були отримані зразки спіна-міченого гемоглобіну, імуноглобуліну-G і САБ, у яких спінова йодацетамідна мітка ковалентно приєднувалася до β -93 SH групи гемоглобіну, SH групи цистеїну САБ і залишку гістидину імуноглобуліну-G [23, 24]. Показано, що введення ПЕГ-400 і ПЕГ-1500 у розчини білків призводить до помітного зменшення параметра оберальної рухливості $1/t_c$ спінової мітки, ковалентно пов'язаної з SH групою цистеїну або залишку гістидину на поверхні білкової глобули.

Зменшення рухливості спінової мітки на макромолекулах білків пов'язано з безпосередньою взаємодією молекул ПЕГ з поверхнею макромолекул. Це призводить до зменшення конформаційної рухливості (імобілізації) залишків амінокислот у районі

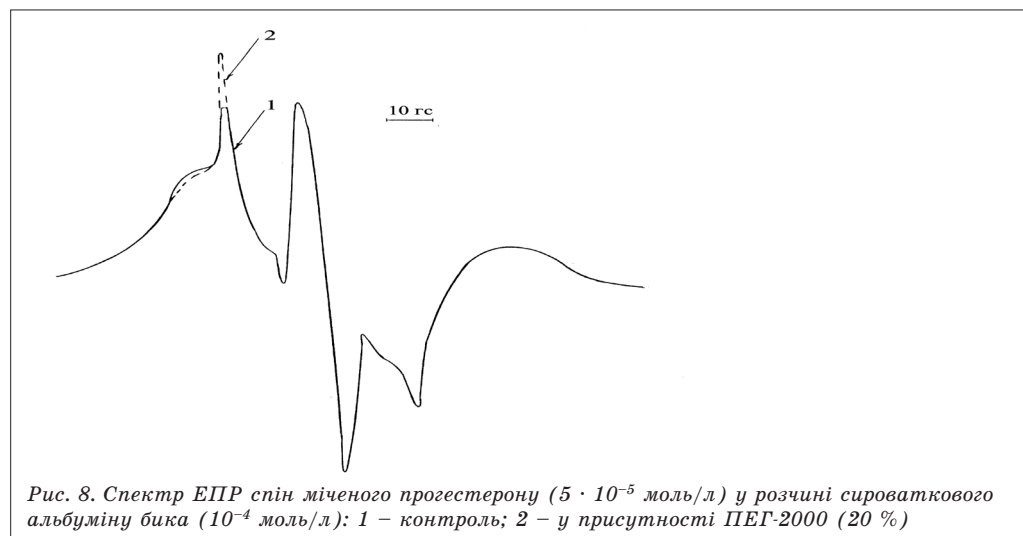


Рис. 8. Спектр ЕПР спіна міченого прогестерону ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) у розчині сироваткового альбуміну бика (10^{-4} моль/л): 1 – контроль; 2 – у присутності ПЕГ-2000 (20 %)

зв'язування ПЕГ з білковою глобулою [23, 24]. ПЕГ ефективно взаємодіють з поверхнею макромолекул білків, що призводить до іммобілізації конформаційної рухливості поверхневих фрагментів макромолекул білків. Суттєва роль при цьому належить частковій дегідратації поверхні білкової глобули та зміні кількості зв'язаної води на поверхні білка [25].

Висновки

За допомогою методу спінових зондів отримані нові дані про додаткові можливі механізми цитотоксичної дії гідрофільних поллоксамерів та гідрофільних ПЕГ блоків поллоксамерів, які можуть пояснити антиракову дію поллоксамерів. Показано, що дія полімеру ПЕГ-1500 на мембрани еритроцитів людини полягає в зниженні мікров'язкості мембран (15 %) протягом 1 год, незважаючи на велику в'язкість самого ПЕГ-1500. Вплив ПЕГ-1500 на мікров'язкість мембран еритроцитів щурів значно менший – кілька відсотків. Уведення 5 % поллоксамеру 407 в еритроцити людини призводить до сильного падіння мікров'язкості мембран еритроцитів протягом 1 год – для параметра τ_{11} максимально на 40–50 %, а для параметра $\tau_{+1/-1}$ – максимально на 60–75 %, що мабуть є критичним для мембран еритроцитів. Падіння мікров'язкості мембран при введенні поллоксамеру 407 в еритроцити щура трохи нижче – для параметра τ_{11} становить 37 %, а для параметра $\tau_{+1/-1}$ трохи більше 60 %. Значне падіння мікров'язкості мембран еритроцитів спостерігається і при введенні в еритроцити людини поллоксамеру 338 – для параметра τ_{11} максимально на 40 %, а для параметра $\tau_{+1/-1}$ – максимально на 65 %. Присутність поллоксамеру 338 в еритроцитах щурів, як і у випадку поллоксамеру 407, призводить до меншого падіння мікров'язкості мембран клітин – для параметра τ_{11} становить 20 %, а для параметра $\tau_{+1/-1}$ – 50 %. І в цьому випадку еритроцити

щурів більш стійкі (резистентні) до дії цитотоксичного проксанолу 338, ніж клітини людини. Поллоксамер 237 значно не впливає на еритроцити людини і щурів, а поллоксамер 188 знижує мікров'язкість мембран клітин протягом 1 год на 20 %.

Додавання в ліпосоми поллоксамеру 268 призводить до сильного збільшення плинності (зменшення в'язкості) мембран ліпосом, ефект зростає зі збільшенням концентрації поллоксамеру. За допомогою спінових зондів показано взаємодію ПЕГ-1500 з ліпідним бішаром ліпосом і клітин мітохондрій, а також стійку в часі дегідратацію еритроцитів людини під впливом осмотично активного ПЕГ-2000. Отримані нові дані про взаємодію високомолекулярних ПЕГ-1500, ПЕГ-2000 і ПЕГ-4000 із гідрофобною порожниною (кишенею) поверхні глобули сироваткового альбуміну за допомогою гідрофобних метиленових груп. Ці дані свідчать про можливість послаблення білок-ліпідної взаємодії між мембранним глікопротеїном Р-gr і ліпідами мембран ракових клітин гідрофільними поллоксамирами, що суттєво знижуватиме активність цього ключового білка ракових клітин.

Підсумовуючи отримані результати, можна сказати, що механізми цитотоксичної дії поллоксамерів різної будови універсальні для багатьох клітин, не тільки ракових, і полягають у сильному зниженні мікров'язкості мембран клітин, яке знижує активність багатьох мембранних білків і ферментів. У гідрофільних поллоксамерів є додаткові механізми цитотоксичності і пригнічення МЛС ракових клітин, пов'язані з дією великих ПЕГ блоків на мембрани – додаткове розпушення мембран, ослаблення білок-ліпідної взаємодії між глікопротеїном Р-gr і ліпідами мембран ракових клітин, дегідратація мембран клітин, можлива взаємодія ПЕГ блоку з макромолекулою Р-gr з подальшою зміною активної конформації макромолекули білка.

1. Moghimi S. M. Poloxamers and poloxamines in nanoparticle engineering and experimental medicine / Moghimi S. M., Hunter A. C. // Trends Biotechnol. – 2000. – V. 18. – № 10. – P. 412–420.
2. A phase 2 study of SP1049C, doxorubicin in P-glycoprotein-targeting Pluronics, in patients with advanced adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction / Valle J. W., Armstrong A., Newman C. [et al.] // Invest. New Drugs. – 2011. – V. 29. – P. 1029–1037.

3. Будкина О. А. Структурно-функциональные закономерности воздействия амфифильных блок-сополимеров на раковые клетки: дисс. на соискание ученой степени канд. хим. наук / Будкина О. А. – Москва : МГУ- химфак. – 2015. – 135 с.
4. Мембранотропные свойства блок-сополимеров окиси этилена и окиси пропилена / Топчиева И. Н., Осипова С. В., Банацкая М. И., Валькова Л. А. // ДАН СССР. – 1989. – Т. 308. – С. 910–913.
5. Firestone M. A. Small-angle X-ray scattering study of the interaction of poly(ethyleneoxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) triblock copolymers with lipid bilayers / Firestone M. A., Wolf A. C., Seifert S. // Biomacromolecules. – 2003. – V. 4, № 6. – P. 1539–1549.
6. Poloxamer sorption on liposomes: comparison with polystyrene latex and influence on solute efflux / Jamshaid M., Farr S. J., Kearney P. Kellaway I.W. // Int. J. Pharm. – 1988. – V. 48. – P. 125–131.
7. Kostarelos K. Physical conjugation of (tri-)block copolymers to liposomes toward the constration of sterically stabilized vesicle systems / Kostarelos K., Tadros Th. F., Lusckham P. F. // Langmuir. – 1999. – V. 15, № 2. – P. 369–376.
8. Kostarelos K. Addition of block copolymers to liposomes prepared using soybean lecithin. Effects of formation, stability and the specific localization of the incorporated surfactants investigated / Kostarelos K., Luckham P. F., Tadros Th. F. // J. Liposome Research. – 1995. – V. 5, № 1. – P. 117–130.
9. Жирнов А. Е. / Взаимодействие полиалкиленоксидов с компонентами клеточных мембран: дисс. канд. хим. наук : специальность 02.00.06, 03.00.04. // Жирнов А. Е. – Москва, 2007. – 153 с.
10. Ferte J. Analysis of the tangled relationships between P-glycoprotein-mediated multidrug resistance and the lipid phase of the cell membrane / Ferte J. // Eur J. Biochem. – 2000. – V. 267, № 2. – P. 277–294.
11. Three-dimensional structure of P-glycoprotein: the transmembrane regions adopt an asymmetric configuration in the nucleotide-bound state / Rosenberg M. F., Callaghan R., Modok S. [et al.] // J. Biol. Chem. – 2005. – V. 280, № 4. – P. 2857–2862.
12. Interaction of tumor and normal blood cells with ethylene oxide and propylene oxide block copolymers / Melik-Nubarov N. S., Pomaz O. O., Dorodnych T. Yu. [et al.] // FEBS Lett. – 1999. – V. 446, № 1. – P. 194–198.
13. Доставка липофильных спиновых зондов углеродными нанотрубками в эритроциты и плазму крови / Л. В. Иванов, А. Н. Ляпунов, Н. Т. Картель [и др.] // Поверхность. – 2014. – Вып. 6 (21). – С. 292–304.
14. Оценка влияния углеродных нанотрубок на микровязкость мембран эритроцитов / Н. Т. Картель, Л. В. Иванов, А. Н. Ляпунов [и др.] // Доповіді Нац. акад. наук України. – 2015. – № 3. – С. 114–121.
15. Лихтенштейн Г. И. Метод спиновых меток в молекулярной биологии / Г. И. Лихтенштейн. – Москва : Наука, 1974. – С. 12–24.
16. Метод спиновых меток. Теория и применения / Под ред. Л. Берлинера. – Москва : Мир, 1979. – 639 с.
17. Мак-Коннелл Г. М. Спиновые метки. Теория и применение / Г. М. Мак-Коннелл. – Москва : Мир, 1979.
18. Межидов С. Х. Дегидратация эритроцитов компонентами криоконсервирующих сред / С. Х. Межидов, В. А. Моисеев, О. А. Нардид // Криобиология. – 1989. – № 2. – С. 13–16.
19. Нардид О. А. Влияние криопротекторов на белок-липидные взаимодействия в мембранах эритроцитов // Физико-химические процессы в криобиологических системах: статьи / О. А. Нардид, Л. В. Цымбал, А. К. Гулевский. – Харьков, 1991. – С. 102–106.
20. Wessels J. M. C. Comparison of glycerol permeability and lipid composition of red blood cell membranes from eight mammalian species / J. M. C. Wessels, J. H. Veerkam'p // Biochimica et Biophysica Acta. – 1973. – V. 291. – P. 190–196.
21. Влияние состава двухкомпонентных растворителей на биологические мембраны / Иванов Л. В., Ляпунов Н. А., Цымбал Л. В. [и др.] // Хим.-фармац. ж. – 1986. – № 12. – С. 1437–1443.
22. Иванов Л. В. / Характеризация реологических свойств поверхности нанобиообъектов методом спиновых зондов / Л. В. Иванов, Н. Т. Картель // Поверхность. – 2012. – Вып. 4 (19). – С. 334–348.
23. The mechanism of action of low temperature and crioprotective agent on immunoprotein / Tsutsaeva U. F., Pushkar N. S., Matnova V. M. [et. al.] // Criobiology. – 1976. – V. 15, № 4. – P. 94–97.
24. Ivanov L. V. The effect of low temperatures and cryoprotectans on the state of globular protein / Ivanov L. V., Gavrilova I. I., Moiseev V. A. // Abstr. Second Intern. Conference on Water and ions in Biol. syst. – Buchurest, 1982. – P. 43.
25. Моисеев В. А. Молекулярные механизмы криоповреждения и криозащиты белков и биологических мембран: дисс. на соиск. ученой степени докт. биол. наук / Моисеев В. А.; ИПКиК АН СССР. – Харьков, 1984. – 331 с.
26. Optimal structure requirements for pluronic block copolymers in modifying P-glycoprotein drug efflux transporter activity in bovine brain microvessel endothelial cells / Batrakova E. V., Li S., Alakhov V. Y. [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2003. – V. 304, № 2. – P. 845–854.
27. Mechanism of inhibition of P-glycoprotein mediated efflux by Pluronic P123/F127 block copolymers: Relationship between copolymer concentration and inhibitory activity / Wei Z., Yuan S., Hao J., Fang X. // Eur. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2013. – V. 83, № 2. – P. 266–274.

**Л. В. Иванов, Н. Т. Картель, А. Н. Ляпунов, О. А. Нардід, Я. О. Черкашина,
Деримедвідь Л. В., І. А. Кирилюк**

**Вивчення механізмів цитотоксичності низки гідрофільних поллоксамерів
методом спінових зондів**

За допомогою методу спінових зондів отримано нові дані щодо можливих механізмів цитотоксичної дії низки гідрофільних поллоксамерів із великими гідрофільними (ПЕГ) блоками, що може призводити до зниження множинної лікарської стійкості (МЛС) ракових клітин. Для цього досліджено взаємодію ряду гідрофільних поллоксамерів і окремо високомолекулярних ПЕГ як гідрофільних блоків поллоксамерів, з модельними мембранами, живими клітинами і білками різної структури, а також їхній вплив на конформаційну рухливість ліпідів мембран клітин і макромолекул різних білків. Показано, що введення в еритроцити людини та щурів 5 % поллоксамерів 188, 237, 338 і 407, які мають у структурі великі гідрофільні ПЕГ блоки, як правило, супроводжувалося сильним зниженням мікров'язкості мембран клітин, іноді в 1,5 і більше рази (поллоксамер 338 і 407). ПЕГ-1500 також ефективно зв'язувався з ліпідами мембран ліпосом, мітохондрій і еритроцитів, у результаті чого мікров'язкість мембран еритроцитів знижувалася протягом 1 год. Уведення осмотично активного ПЕГ-2000 в еритроцити людини призводить до стійкої в часі дегідратації клітин. За допомогою спінових зондів отримані нові дані щодо взаємодії високомолекулярних ПЕГ-1500, ПЕГ-2000 і ПЕГ-4000 з гідрофобною порожниною (кишенею) поверхні глобули альбуміну за допомогою гідрофобних метиленових груп.

Так як інтегральний мембранний глікопротеїн ракових клітин Р-гр, вбудований у мембранний ліпідний бішар, у тому числі й за допомогою поверхневих гідрофобних ділянок макромолекули Р-гр, зроблено припущення, що механізм інгібування Р-гр гідрофільними поллоксамерами може бути пов'язаний з порушенням або з ослабленням білково-ліпідної взаємодії макромолекули Р-гр з ліпідами мембран ракових клітин під дією ПЕГ блоків. Встановлено, що механізми цитотоксичної дії поллоксамерів різної будови універсальні для багатьох клітин, не тільки ракових, і полягають в сильному зниженні мікров'язкості мембран клітин, яке призводить до зниження активності багатьох мембранних білків і ферментів. У гідрофільних поллоксамерів є додаткові механізми цитотоксичності і пригнічення МЛС ракових клітин, пов'язані з дією великих ПЕГ блоків на мембрани – додаткове розпушення мембран, ослаблення білок-ліпідної взаємодії між глікопротеїном Р-гр і ліпідами мембран ракових клітин, дегідратація мембран клітин, можлива взаємодія ПЕГ блоку з макромолекулою Р-гр з подальшою зміною активної конформації макромолекули білка.

Ключові слова: поллоксамери, поліпропіленгліколь, спінові зонди, мікров'язкість мембран

**Л. В. Иванов, Н. Т. Картель, А. Н. Ляпунов, О. А. Нардид, Я. О. Черкашина,
Л. В. Деримедведь, И. А. Кирилюк**

**Изучение механизмов цитотоксичности ряда гидрофильных поллоксамеров
методом спиновых зондов**

С помощью метода спиновых зондов получены новые данные о возможных механизмах цитотоксического действия ряда гидрофильных поллоксамеров с большими гидрофильными (ПЭГ) блоками, которое снижает множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) раковых клеток. Для этого изучили взаимодействие ряда гидрофильных поллоксамеров и отдельно высокомолекулярных ПЭГ, как гидрофильных блоков поллоксамеров, с модельными мембранами, живыми клетками и белками различной структуры, а также их влияние на конформационную подвижность липидов мембран клеток и макромолекул различных белков. Показано, что введение в эритроциты человека и крысы 5 % поллоксамеров 188, 237, 338 и 407, которые имеют в структуре большие гидрофильные ПЭГ блоки, как правило, сопровождалось сильным снижением микровязкости мембран клеток, иногда в 1,5 и больше раза (поллоксамеры 338 и 407). ПЭГ-1500 также эффективно связывался с липидами мембран липосом, митохондрий и эритроцитов, в результате чего микровязкость мембран эритроцитов снижалась на протяжении часа. Введение осмотически активного ПЭГ-2000 в эритроциты человека приводит к стойкой во времени дегидратации клеток. С помощью спиновых зондов получены новые данные о взаимодействии высокомолекулярных ПЭГ-1500, ПЭГ-2000 и ПЭГ-4000 с гидрофобной полостью (карманом) поверхности глобулы сывороточного альбумина с помощью гидрофобных метиленовых групп. Так как интегральный мембранный гликопротеин раковых клеток Р-гр встроен в мембранный липидный бислой, в том числе и с помощью поверхностных гидрофобных участков макромолекулы Р-гр, нами было сделано предположение, что механизм ингибирования Р-гр гидрофильными поллоксамерами может быть связан с нарушением или ослаблением белково-липидного взаимодействия макромолекулы Р-гр с липидами мембран раковых клеток под действием ПЭГ блоков. Механизмы цитотоксического действия поллоксамеров различной структуры универсальны для многих клеток, не только раковых, и заключаются в сильном снижении микровязкости мембран клеток, которое снижает активность многих мембранных белков и ферментов. У гидрофильных поллоксамеров есть дополнительные механизмы цитотоксичности и снижения МЛУ раковых клеток, связанных с действием больших ПЭГ блоков на мембраны – дополнительное раз-

рыхление мембран, ослабление белок-липидного взаимодействия между гликопротеином P-gp и липидами мембран раковых клеток, дегидратация мембран клеток, вероятное взаимодействие ПЭГ блоков с макромолекулой P-gp с последующим изменением активной конформации макромолекулы белка.

Ключевые слова: поллоксамеры, полипропиленгликоль, спиновые зонды, микровязкость мембран

**L. V. Ivanov, M. T. Kartel, A. N. Lyapunov, O. A. Nardid, Ya. O. Cherkashina,
L. V. Derimedvid, I. A. Kirilyuk**

**Study of cytotoxic mechanisms of a number of hydrophilic poloxamers
by spin probe**

Using the method of spin probes were obtained new data on the possible mechanisms of cytotoxicity of a number of hydrophilic poloxamers with large hydrophilic (PEG) blocks, which can reduce the multidrug resistance (MDR) of cancer cells. For this study the interaction of a number of hydrophilic poloxamers and high molecular weight PEG separately, as hydrophilic blocks poloxamers, with model membranes and living cells and proteins of different structures, as well as their influence on the conformational flexibility of lipid membranes of cells and macromolecules of different proteins. It is shown that the introduction in human and rat erythrocytes 5 % poloxamer 188, 237, 338 and 407, which are in the structure of large hydrophilic PEG blocks usually accompanied by a strong decrease in microviscosity cell membranes, sometimes by 1.5 times and more (poloxamers 338 and 407). PEG-1500 effectively contacted with lipid membrane of liposomes, mitochondria, and erythrocytes, whereby the erythrocyte membrane microviscosity dropping over one hour. Introduction osmotically active PEG-2000 in human erythrocytes leads to stable time of dehydration in cells. By spin probe method were obtained new data on the interaction of high-molecular PEG-1500, PEG-2000 and PEG-4000 with the hydrophobic cavity (pocket) of serum albumin globule surface via hydrophobic methylene groups. As integral membrane glycoprotein in cancer cells P-gp, embedded in the membrane lipid bilayer, including the surface via hydrophobic regions macromolecule P-gp, we have made the assumption that the mechanism of inhibition of P-gp hydrophilic poloxamers may be associated with the violation or attenuation of protein-lipid interactions macromolecule P-gp with lipid membranes of cancer cells by PEG blocks. Mechanisms of the cytotoxic effect of different poloxamers structure are universal for many cells, not only cancer – strong decrease of microviscosity of cell membranes, which reduces the activity of many membrane proteins and enzymes. The hydrophilic poloxamers have additional mechanisms of cytotoxicity and reducing MDR cancer cells associated with the action of larger PEG blocks on the membrane – the membrane additional loosening, weakening the protein-lipid interactions between the glycoprotein P-gp and a lipid membrane of cancer cells, the dehydration of the cell membranes, the probability of interaction of PEG block with macromolecule P-gp and then change the active conformation of the protein macromolecule.

Key word: poloxamers, PEG, spin probe, microviscosity

Надійшла: 25.05.2015 р.

Контактна особа: Іванов Леонід Вікторович, провідний науковий співробітник, Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України, буд. 17, вул. Генерала Наумова, М. Київ, 03164.
Тел.: + 38 0 66 865 57 52. Електронна пошта: ivleon@ ukr.net

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового за умов високожирової дієти в щурів

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: чорноголовник родовиковий, інсулінорезистентність, високожирова дієта, абдомінально-вісцеральне ожиріння

Досить швидко збільшення людей з надлишковою масою тіла та ожирінням у багатьох країнах світу природним чином пов'язане зі зростанням частоти цукрового діабету (ЦД), насамперед, 2 типу (ЦД2). Близько 80–85 % хворих на ЦД2 схильні до підвищеної коруплентності, що вже близько двох десятиріч тому призвело до введення в обіг терміну «diabesity» (від англ. «diabet» – діабет і «obesity» – ожиріння) [1].

Також спостерігається стрімке зростання частки населення з метаболічним синдромом, який відповідно до резолюції Міжнародної Федерації Діабету, у першу чергу, характеризується присутністю у хворих інсулінорезистентності та абдомінально-вісцерального ожиріння [2].

Основними компонентами харчового жиру є гетерогенна суміш різних жирних кислот: мононенасичених, поліненасичених, насичених та трансненасичених жирних кислот. Насичені жирні кислоти мають здатність підвищувати інсулінорезистентність та ризик формування діабету. Епідеміологічні дослідження показують прямий взаємозв'язок харчових насичених жирних кислот з частотою резистентності до інсуліну або ЦД2. До того ж насичені жирні кислоти за умов гіперглікемії можуть пошкоджувати β -клітини, що відомо як концепція глюколіпотоксичності [3].

Надмірне споживання жирів (> 37 % від добової калорійності їжі) знижує чутливість до інсуліну, незалежно від складу жирних кислот в раціоні. Окрім збільшення ваги це може призводити до порушення транспорту глюкози,

зниження зв'язування інсуліну з його рецепторами та накопичення запасних тригліцеридів у скелетних м'язах.

Високожирова дієта (ВЖД) у три рази збільшує відносну масу вісцерального жиру, що може бути підґрунтям розвитку інсулінорезистентності [4].

Інтенсивний ліполіз у вісцеральних адипоцитах призводить до підвищення рівня вільних жирних кислот (ВЖК) у крові [5], а хронічно високий рівень ВЖК чинить ліпотоксичний ефект на β -клітини підшлункової залози. Встановлено, що «глюколіпотоксичність» надлишку ВЖК викликає стрес ендоплазматичного ретикулуму, який призводить до інсулінорезистентності та знову ж таки до загибелі β -клітин. У цілому, багаторазово і вірогідно показано, що «глюколіпотоксичність» надлишку ВЖК у більшості пацієнтів, які страждають на ожиріння, призводить до ланцюга патологічних порушень гомеостазу глюкози та до інсулінорезистентності багатьох тканин (м'язових, печінки, ендотеліальних клітин).

ВЖК – це незалежний предиктор порушення толерантності до глюкози та ЦД2. Таким чином, механізм розвитку інсулінорезистентності при надлишковій концентрації ВЖК відбувається за рахунок того, що:

- підвищується рівень глюкози, хронічно високий рівень ВЖК чинить «ліпотоксичний токсичний» ефект на β -клітини підшлункової залози;
- гіперглікемія збільшується через підвищений потік ВЖК у печінці, особливо за рахунок ліполізу вісцерального жиру та підвищення в печінці ендогенного синтезу глюкози;
- підвищений рівень керамідів, діацилтригліцерилу та триацилгліцерину інгібує шлях передачі інсулінового сигналу в скелетних м'язах.

До того ж підвищений рівень ВЖК викликає в мітохондріях макросудинних ендотеліальних клітин надлишкове утворення активних форм кисню, що призводить до оксидативного стресу, окиснення холестерину ліпопротеїнів низької щільності та модифікації холестерин-ліпопротеїнів високої щільності, що індукує запальний процес у стінках судин, ендотеліальну дисфункцію, призводить до утворення та накопичення холестеринових бляшок, а потім – до ішемії [6].

Зростання захворюваності на діабет, особливо в країнах, що розвиваються, породжує нові проблеми. Частка населення, яка не має доступу до сучасних ліків, так само, як і населення розвинених країн, прагнучим уникнути використання медикаментів та шукатиме способи лікування, які засновані на натуральних, природних компонентах. Лікування рослинними засобами для багатьох людей може бути більш прийнятним та простішим порівняно з таблетками або ін'єкціями.

Попередніми дослідженнями достовірно підтверджена гіпоглікемічна активність чорноголовника родовикового на експериментальній моделі дексаметазонавого діабету [7]. Тому наступним етапом вивчення цієї перспективної рослини стало дослідження його антидіабетичних властивостей за умов високожирової дієти.

Мета дослідження – вивчити антидіабетичні властивості відвару підземних органів чорноголовника родовикового в щурів за умов високожирової дієти.

Матеріали та методи. Для проведення дослідження були використані 6-місячні самці білих щурів лінії Wistar масою 200–220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію з доступом до води *ad libitum*. Дослідження проводили згідно з морально-етичними нормами відповідно до правил ICH/GCP, Хельсінкської декларації (1964 р.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицини і законодавства України.

Моделювання інсулінорезистентності здійснювали утриманням тварин на дієті з підвищеним вмістом жирів [4].

Тварини були розподілені на 4 групи по 6 піддослідних у кожній. Окрім групи тварин, що отримувала відвар підземних органів чорноголовника родовикового, була відокремлена група діабетичних тварин, які отримували за аналогічною схемою плацебо (діабетичний контроль), група інтактних тварин (інтактний контроль) та група діабетичних тварин, яким вводили референс-препарат.

Відвар чорноголовника родовикового (ВЧР) готували згідно зі стандартною фармакопейною методикою та застосовували перорально в дозі 10 мл/кг, оскільки ця доза виявилась оптимальною за оцінкою гіпоглікемічної активності ВЧР після одноразового введення [8]. Група діабетичного контролю одержувала еквівалентну кількість води дистильованої як плацебо.

Як референс-препарат використали похідне бігуанідів – метформін у дозі 150 мг/кг [9–11]. Метформін як препарат вибору для лікування ЦД2 має здатність покращувати показники глікемії та ліпідного обміну у хворих з абдомінальним ожирінням та порушенням толерантності до глюкози [12].

Характеристику глюкозного гомеостазу проводили за допомогою короткого інсулінового тесту та орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ). Забір крові проводили шляхом дистальної резекції хвоста. Уміст глюкози в крові визначали за допомогою глюкометра One Touch Select. Абдомінально-вісцеральний жир збирали після декапітації тварин на фоні внутрішньоочеревинного введення розчину тіопентал-натрію (40 мг/кг).

Інсулінорезистентність моделювали утриманням тварин на дієті з підвищеним вмістом жирів.

Дослідження показують, що утримання щурів протягом короткого періоду (3–4 тижні) на ізокалорійній дієті, що відрізняється тільки жирно-кислотним профілем, достатньо, щоб спровокувати інсулінорезистентність. Але дієта з підвищеним рівнем не всіх жирних кислот викликає порушення в дії інсуліну. Так, лише дієта з високим вмістом насичених та мононенасичених жирів призводить до розвитку інсулінорезистентності в численних тканинах [13, 14].

Для моделювання інсулінорезистентності протягом 8 тижнів тварин утримували на високожировій дієті, у якій співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 6,5 : 52,5 : 41,0 % від загальної калорійності [15]. Тварин інтактного контролю утримували на стандартному раціоні, у якому співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 15,7 : 2,8 : 81,5 % від загальної калорійності їжі.

Протягом останніх 28 днів перебування на дієті тварини щодня отримували перорально ВЧР або референс-препарат.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням пакета програми «ANOVA». Статистичну значимість відмінностей вибірок встановлювали за допомогою критерію Манна-Уїтні. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез вважали рівним 0,05 та 0,01.

Результати та їх обговорення. Протягом усього експерименту достовірно значимого набору ваги в тварин не спостерігали. Але було встановлено достовірне збільшення кількості абдомінально-вісцерального жиру в групі діабетичного контролю порівняно з інтактним контролем (рис. 1). Абдомінально-вісцеральний жир склав 8,5 % від загальної маси тварин діабетичного контролю. У групі інтактного контролю відношення абдомінально-вісцерального жиру до загальної маси становило 1,7 %, що достовірно свідчить про розвиток абдомінально-вісцерального ожиріння в тварин на тлі утримання їх на дієті з високим умістом жирів.

Кількість абдомінально-вісцерального жиру в групі, що отримувала ВЧР, складала 1,2 %, що підтверджує його здатність стримувати формування абдомінально-вісцерального ожиріння за умов високожирової дієти.

Підтвердженням розвитку інсулінорезистентності за умов високожирової дієти було менше зниження рівня глюкози під час проведення короткого інсулінового тесту в щурів групи діабетичного контролю. Так, рівень глюкози у тварин інтактного контролю через 30 хв після введення інсуліну знижувався на 66,7 %, а у тварин діабетичного контролю – на 42 %.

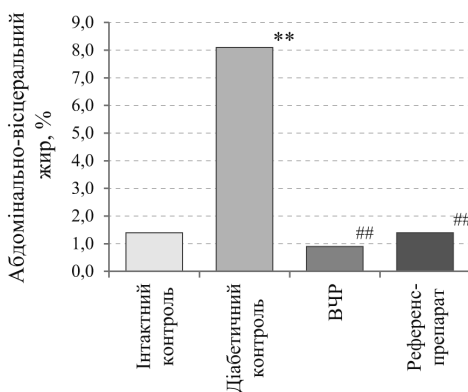


Рис. 1. Накопичення абдомінально-вісцерального жиру в щурів за умов високожирової дієти та впливу ВЧР, % до загальної маси тварин, $n = 6$

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

Пероральне застосування ВЧР, подібно до референс-препарату, ефективно стримувало розвиток інсулінорезистентності за умов високожирової дієти, про що свідчать результати короткого інсулінового тесту (рис. 2). У групі тварин, які отримували ВЧР, рівень глюкози знижувався під впливом інсуліну на 57,7 %, а в групі тварин, що отримували референс-препарат (метформін) – на 57,9 %. Отримані дані достовірно відрізняються від показника діабетичного контролю та свідчать про здатність покращувати чутливість до інсуліну на тлі високожирового екзогенного навантаження.

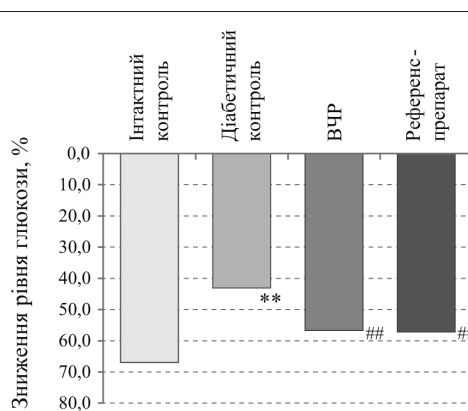
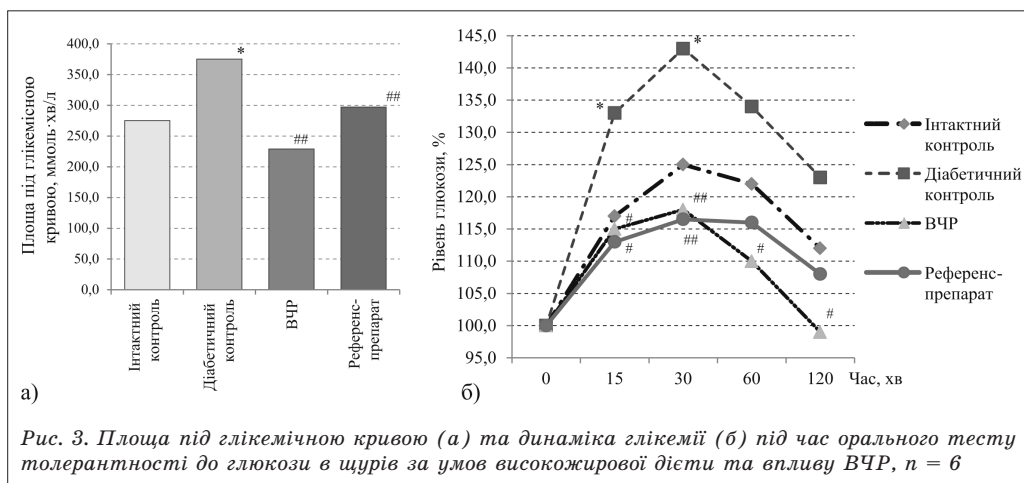


Рис. 2. Інсулінова гіпоглікемія в щурів за умов високожирової дієти та впливу ВЧР, $n = 6$



Утримання тварин на дієті з підвищеним вмістом жирів призводило до формування інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози, що підтверджено в ОТТГ (рис. 3).

Від початку проведення ОТТГ у групі діабетичного контролю на відміну від групи інтактного контролю відбулося різке зростання концентрації глюкози крові, що підтверджує наявність зниженої чутливості β -клітин підшлункової залози до глюкози.

Оцінку глікемічної реакції при проведенні тесту толерантності до вуглеводів здійснювали порівнянням площі під кривими. Було встановлено, що площа під глікемічною кривою в групі діабетичного контролю була значно більшою за аналогічну площу групи інтактного контролю, що підтверджує формування інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози в групі діабетичного контролю.

Пероральне введення тваринам ВЧР та референс-препарату стримувало розвиток досліджуваних порушень у вуглеводному обміні. Розраховані площі під глікемічною кривою в результаті ОТТГ у групах, які отримували ВЧР та метформін, достовірно відрізнялися від такої в групі діабетичного контролю та набли-

жалися до значення групи інтактного контролю.

Таким чином, експериментальне дослідження гіпоглікемічних властивостей ВЧР за умов інсулінорезистентності, індукованої дієтою з підвищеним вмістом жирів, показало наявність гальмівної дії ВЧР на порушення обміну вуглеводів.

Пероральне застосування ВЧР протягом 28 днів гальмувало розвиток інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози в тварин, яких утримували на високожировій дієті, що підтверджено суттєвим зменшенням площі під глікемічними кривими під час ОТТГ та вираженою інсуліновою гіпоглікемією порівняно з показниками групи діабетичного контролю.

Висновок

Результати експериментів на щурах з моделлю інсулінорезистентності, індукованої утриманням тварин на високожировій дієті, свідчать про здатність відвару підземних органів чорноголовника родовикового знижувати формування абдомінально-вісцерального ожиріння та обмежувати порушення обміну вуглеводів.

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. 2160–2168.
3. Weickert Martin O. Nutritional Modulation of Insulin Resistance / Martin O. Weickert // Scientifica. – 2012. – V. 1. – P. 1–15.
4. Боріков О. Ю. Протективний ефект кверцетину щодо розвитку метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою у оварієктомованих щурів / О. Ю. Боріков // Проблеми ендокринної патології. – 2010. – № 4. – С. 85–93.

5. Карпов Ю. А. Метформин как средство патогенетической терапии больных с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2-го типа / Ю. А. Карпов, А. Т. Шубина // Русский медицинский журнал. – 2010. – № 22. – С. 131–135.
6. Вельков В. В. Вільні жирні кислоти – фактор ризику інсулінорезистентності та ішемії: перспективи для оцінки ризиків і діагностики / Вельков В. В. // Лабораторна діагностика. – 2009. – № 3 (49). – С. 55–70.
7. Клеванова В. С. Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba* L.) за умов дексаметазонавого діабету в щурів / В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський, Г. О. Жернова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 1 (42). – С. 48–52.
8. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. рекомендации / ред. А. В. Стефанова. – Киев. – ИД «Авиценна», 2002. – С. 84–90.
9. Safety, efficacy and toxicological evaluation of a novel, patented anti-diabetic extract of *Trigonella Foenum-Graecum* seed extract (Fenfuro) / A. Swaroop, M. Bagchi, P. Kumar, H. G. Preuss [et al.] // Toxicol Mech Methods. – 2014. – V. 24, № 7. – P. 495–503.
10. Effects of Chinese Fructus Mume formula and its separated prescription extract on insulin resistance in type 2 diabetic rats / J. B. Li, L. J. Xu, H. Dong [et al.] // J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci. – 2013. – V. 33, № 6. – P. 877–885.
11. Studies on the antidiabetic activities of *Cordyceps militaris* extract in diet-streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rats / Y. Dong, T. Jing, Q. Meng [et al.] // BioMed Research International. – 2014. – V. 1. – P. 1–11.
12. Берштейн Л. М. Диабет, ожирение и онкологическая заболеваемость: риски и антириски / Л. М. Берштейн // Сахарный диабет. – 2012. – № 4. – С. 81–88.
13. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. / L. H. Storlien, A. B. Jenkins, D. J. Chisholm [et al.] // Diabetes. – 1991. – V. 40, № 2. – P. 280–289.
14. Diet composition and insulin action in animal models / L. H. Storlien, J. Higgins, T. C. Thomas [et al.] // British Journal of Nutrition. – 2000. – V. 83, № 1. – P. 85–90.
15. Dietary Shiitake Mushroom (*Lentinusedodes*) Prevents Fat Deposition and Lowers Triglyceride in Rats Fed a High-Fat Diet / D. Handayani, J. Chen, B. J. Meyer, and X. F. Huang // Journal of Obesity. – 2011. – V. 1. – P. 1–8.

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового за умов високожирової дієти в щурів

Мета дослідження – вивчити антидіабетичні властивості відвару підземних органів чорноголовника родовикового в щурів за умов високожирової дієти.

Моделювання інсулінорезистентності проводили за допомогою дієти з підвищеним вмістом жирів. Для моделювання інсулінорезистентності протягом 8 тижнів тварин утримували на високожировій дієті, у якій співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 6,5 : 52,5 : 41,0 % від загальної калорійності. Тварин інтактного контролю утримували на стандартному раціоні, в якому співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 15,7:2,8:81,5 % від загальної калорійності їжі. Протягом останніх 28 днів перебування на дієті щодня проводили пероральне введення ВЧР та референс-препарату.

Відвар чорноголовника родовикового (ВЧР) готували згідно зі стандартною фармакопейною методикою та вводили перорально в дозі 10 мл/кг. Як референс-препарат застосовували перорально метформін у дозі 150 мг/кг. Група діабетичного контролю одержувала еквівалентну кількість води дистильованої. Характеристику глюкозного гомеостазу проводили за допомогою короткого інсулінового тесту та орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ).

У результаті експерименту було встановлено достовірне збільшення кількості абдомінально-вісцерального жиру в групі діабетичного контролю (8,5 % від загальної маси) порівняно з інтактним контролем (1,7 % від загальної маси). Кількість абдомінально-вісцерального жиру в групі, що отримувала ВЧР, склала 1,2 %. Рівень глюкози у тварин інтактного контролю через 30 хв після введення інсуліну знижувався на 66,7 %, а у тварин діабетичного контролю – на 42 %. У групі, яка отримувала ВЧР, рівень глюкози під впливом інсуліну зменшувався на 57,7 %, а в групі, що отримувала референс-препарат – на 57,9 %. Розраховані площі під глікемічною кривою в результаті ОТТГ у групах, які отримували ВЧР та метформін, достовірно відрізнялися від такої площі в групі діабетичного контролю та наближалися до значення групи інтактного контролю.

Отримані результати свідчать про те, що пероральне застосування ВЧР гальмує розвиток інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози, а також знижує формування абдомінально-вісцерального ожиріння в щурів, яких утримували на високожировій дієті.

Ключові слова: чорноголовник родовиковий, інсулінорезистентність, високожирова дієта, абдомінально-вісцеральне ожиріння

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового в умовах високожирової дієти в щурів

Цель исследования – изучить противодиабетические свойства отвара подземных органов чорноголовника родовикового у крыс в условиях высокожирової дієти.

Моделирование инсулинорезистентности проводили с помощью диеты с повышенным содержанием жиров. Для моделирования инсулинорезистентности в течение 8 недель животных содержали на высокожировой диете, в которой соотношение белков, жиров и углеводов составило 6,5 : 52,5 : 41,0 % от общей калорийности. Животных интактного контроля содержали на стандартном рационе, в котором соотношение белков, жиров и углеводов составляло 15,7 : 2,8 : 81,5 % от общей калорийности пищи. В течение последних 28 дней содержания на диете животным ежедневно перорально вводили ОЧК или референс-препарат.

Отвар черноголовника кровохлебкового (ОЧК) готовили согласно стандартной фармакопейной методики и вводили перорально в дозе 10 мл/кг. В качестве референс-препарата использовали производное бигуанидов – метформин в дозе 150 мг/кг. Группа диабетического контроля получала эквивалентное количество воды дистиллированной. Характеристику глюкозного гомеостаза проводили с помощью короткого инсулинового теста и орального теста толерантности к глюкозе (ОТТГ).

В результате эксперимента было установлено достоверное увеличение количества абдоминально-висцерального жира в группе диабетического контроля (8,5 % от общей массы) по сравнению с интактным контролем (1,7 % от общей массы). Количество абдоминально-висцерального жира в группе, получавшей ОЧК, составило 1,2 %.

Уровень глюкозы у животных интактного контроля через 30 мин после введения инсулина снижался на 66,7 %, а у животных диабетического контроля – на 42 %. В группе, которая получала ОЧК, уровень глюкозы под влиянием инсулина снижался на 57,7 %, а в группе, получавшей референс-препарат, – на 57,9 %.

Рассчитанные площади под гликемической кривой в результате ОТТГ в группах, получавших ВЧР и метформин, достоверно отличались от такой в группе диабетического контроля и приближались к значению группы интактного контроля.

Полученные результаты свидетельствуют, что пероральное применение ОЧК тормозит развитие инсулинорезистентности и интолерантности к глюкозе, а также снижает формирование абдоминально-висцерального ожирения у крыс, находящихся на высокожировой диете.

Ключевые слова: черноголовник кровохлебковый, инсулинорезистентность, высокожировая диета, абдоминально-висцеральное ожирение

V. S. Klevanova, S. D. Trzhetsynskyy

Antidiabetic properties of blood burnet in rats under high-fat diet

The aim of the study was to investigate antidiabetic properties of Blood burnet's underground organs decoction on rats under high-fat diet conditions.

Simulation of insulin resistance was performed using high-fat diet. For 8 weeks animals were fed on high-fat diet, in which the ratio of protein, fat and carbohydrate was 6,5 : 52,5 : 41,0 % of total calories. Intact animals were kept on standard diet in which the ratio of protein, fat and carbohydrates was 15,7 : 2,8 : 81,5 % of the total caloric intake. Oral administration of Blood burnet's decoction and the reference drug was conducted daily (after 56 days of the diet), for the last 28 days of high-fat diet.

Blood burnet's decoction (BBD) was prepared according to a standard pharmacopeia method and administered orally at the dose 10 ml/kg. Metformin (150 mg/kg) were used as a reference drug. Diabetic control group received an equivalent amount of distilled water as a placebo. Characteristic of glucose homeostasis was carried out using a short insulin test, oral glucose tolerance test (OGTT).

There was a significant increase in the amount of abdominal (visceral) fat in control group (8,5 % of total weight) as compared with intact group (1,7 % of total weight). At the same time, the amount of abdominal (visceral) fat in the BBD's group was 1,2 %.

Glucose level reduced on 66,7 % after 30 minutes of insulin administration in intact animals and on 42 % in control animals. In group which received BBD glucose level decreased on 57,7 % under the influence of insulin and in the group treated with the reference drug (metformin) on 57,9 %.

The calculated area under the glycemic curve in OGTT was significantly different in groups receiving BBD and metformin from such area in control group and approached to the area of intact group.

The results show that the Blood burnet's decoction has the ability to reduce formation of insulin resistance and glucose tolerance, and also reduces the formation of abdominal (visceral) obesity under the high-fat diet in rats.

Key words: blood burnet, insulin resistance, high-fat diet, abdominal (visceral) obesity

Надійшла: 21.05.2015 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

Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко, В. В. Захаренко, Н. І. Шарикіна

Цитостатична дія α_1 -адреноблокаторів – похідних хіназоліну

ДУ «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: похідні хіназоліну, цитостатична дія, лінія недрібноклітинного раку легенів A-549, тест-стандарт Ерлотиніб

Сьогодні значна увага приділяється вивченню таргетних, молекулярно спрямованих протипухлинних засобів, які мають конкретні мішені впливу на злоякісно змінені проліферативні процеси [1].

Наприкінці XX – початку XXI століття значну увагу привернули низькомолекулярні сполуки-похідні хіназоліну, які виявляли здатність блокувати один з головних сигнальних шляхів, у якому центральна роль належить рецептору епідермального фактора росту (EGFR) [2].

Зв'язування похідними хіназоліну АТФ блокує фосфорилування тирозину рецептора, перериває передачу мітогенного сигналу, гальмуючи пухлинний ріст [3].

У той час з'явилися перші інгібітори активності тирозинкіназ Ерлотиніб (Тарцева), Gefitinib [4, 5]. У подальшому кількість таких інгібіторів збільшилася до декількох десятків, і з'являються нові інгібітори тирозинкіназ, дія яких спрямована на різні форми пухлинного росту [6].

Увагу привернули відомі препарати – похідні хіназоліну, що використовуються в клінічній практиці як гіпотензивні засоби та засоби впливу на кровообіг при доброякісних пухлинах передміхурової залози [7] – Празозин та Доксазозин.

Спочатку вважалося, що такі засоби, як α_1 -адреноблокатори, поліпшують сечовиділення за рахунок впливу на судини передміхурової залози [8]. Натепер показано, що рецептори GPCR, до яких належать рецептори біогенних амінів, у тому

числі α_1 -адренорецептори, мають здатність до трансактивації з рецепторами EGFR, тобто α_1 -адреноблокатори можуть інгібувати активність EGFR, як це було показано для Ерлотинібу [9, 10].

У дослідженні надано матеріали порівняльного вивчення цитостатичної дії зазначених гіпотензивних засобів порівняно з Ерлотинібом.

Мета дослідження – оцінити перспективи пошуку цитостатичних та протипухлинних засобів серед похідних хіназоліну.

Матеріали та методи. Цитотоксична дія похідних хіназоліну на культурі пухлинних клітин з експресованою активністю рецепторів епідермального фактора росту.

Дослідження проведені на клітинах недрібноклітинного раку легенів людини A549, що культивувалися в поживному середовищі RPMI-1640 (HyClone, США) з додаванням 10 % ембріональної сироватки теляти (HyClone, США) у зволоженій атмосфері з 5 % CO₂, 95 % повітря (стандартні умови).

Клітини висівали в 96-лунковий планшет у концентрації 2000 клітин на лунку й культивували за стандартних умов протягом 5 діб (до досягнення рівня конфлюентності 90 %).

Визначали цитотоксичну дію кожної з досліджуваних речовин у шести концентраціях. Для цього по 10 мг речовин розчиняли в ДМСО і вносили у відповідні лунки мікротитрувального планшета, що вже містили клітини й повне поживне середовище, до концентрації, при якій вміст розчинника не перевищував 0,5 %. Отримані розчини розтитували дворазовими розведеннями та культивували протягом 24 год. У планшеті залишали лунки з інтактними клітинами як контроль життєздатності клітин.

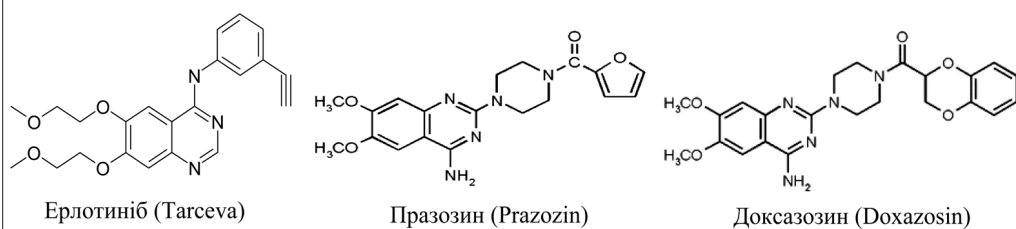


Рисунок. Структурні формули Ерлотинібу, Празозину, Доксазозину

Оцінку цитотоксичної активності речовин на клітинах недрібноклітинного раку легенів людини A549 проводили в колориметричному тесті з використанням жовтого барвника (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразоліум броміду (MTT) (Applichem, Німеччина), що в живих клітинах перетворюється на пурпурний формазан. Після закінчення експозиції досліджуваних сполук з лунок видаляли культуральне середовище, вносили по 20 мкл розчину MTT із 100 мкл свіжого поживного середовища та інкубували протягом 4 год у темряві за стандартних умов. Після цього вміст лунок видаляли й розчиняли MTT-формазанові кристали додаванням 50 мкл ДМСО у кожен лунку. Оптичну густину забарвлених клітин вимірювали на спектрофотометрі для мікропланшета (АКИЩ-01, Росія) при довжині хвилі збудження 490 нм [11].

Статистичну обробку та графічне оформлення результатів здійснювали за допомогою MS Excel 2007 (Microsoft Office, США).

Цитотоксичну та антипроліферативну активність визначали за показником «інгібуюча концентрація 50» (IC_{50} – концентрація досліджуваної речовини, за якої гине 50 % клітин), що вираховували за програмою Origin 6.1, (OriginLab Co, США).

Згідно з наведеним методом, вивчено активність відомих препаратів – похід-

них хіназоліну (Празозин, Доксазозин) порівняно з Ерлотинібом (рисунок).

Результати та їх обговорення. Результати дослідження цитостатичної дії похідних хіназоліну (модель – лінія недрібноклітинного раку легенів людини A-549) наведено в таблиці.

Речовина вважається цитостатично активною в разі $IC_{50} \leq 10^{-4}$ М ($\log IC_{50} \leq -4$) [12].

Вивчені препарати мають $\log (IC_{50}) \leq -4$, що вказує на їхню високу цитостатичну активність, вищу, ніж у тест-стандарту Ерлотинібу.

α_1 -Адреноблокатори – похідні хіназоліну, що блокують α_1 -адренорецептори (Празозин, Доксазозин), перевищують чи близькі за рівнем цитостатичної дії до похідного хіназоліну Ерлотинібу, для якого встановлена здатність блокувати активність EGFR, що дозволяє припустити їх однаковий характер дії за рахунок впливу на трансактивацію сигнальних шляхів (GPCR, EGFR).

Висновок

Одержані дані дають підстави вважати, що після додаткових доклінічних досліджень серед відомих α_1 -адреноблокаторів виявлено сполуку-лідера як засіб, для якого можна буде поширити показання для застосування при злоякісних новоутвореннях певного гістотипу та локалізації.

Таблиця

Показники IC_{50} досліджувальних препаратів на клітинній лінії недрібноклітинного раку легенів людини (A-549)

Сполука	IC_{50} моль/л	$\log (IC_{50})$
Ерлотиніб	$3,8 \cdot 10^{-5}$	- 4,4
Празозин	$1,5 \cdot 10^{-5}$	- 4,8
Доксазозин	$4,56 \cdot 10^{-6}$	- 5,34

1. *Giaccone G.* / Targeted Therapies in oncology / Giuseppe Giaccone, Jean-Charles Soria . – CRC Press, 2007. – 424 p.
2. *John D. Haley* EGFR Signaling Networks in Cancer Therapy / John D. Haley, William John Gullick. – New York : Humana Press, 2009. – 395 p.
3. The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification / Prenzel N., Fischer O.M., Streit S. [et al.] // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2001. – V. 8, № 1. – P. 11–31.
4. *Steins M.* Erlotinib / Steins M., Thomas M., Geißler M. // *Recent Results Cancer Res.* – 2014. – V. 201. – P. 109–123.
5. *Rahman A. F.* Gefitinib / Rahman A. F., Korashy H. M., Kassem M. G. // *Profiles Drug Subst. Excip. Relat. Methodol.* – 2014. – № 39. – P. 239–264.
6. Tyrosine kinase inhibitors / Natoli C., Perrucci B., Perrotti F. [et al.] // *Curr. Cancer Drug Targets.* – 2010. – V. 10, № 5. – P. 462–483.
7. *Garg G.* Management of benign prostate hyperplasia: an overview of alpha-adrenergic antagonist / Garg G., Singh D., Saraf S. // *Biol. Pharm. Bull.* – 2006. – V. 29, № 8. – P. 1554–1158.
8. *Kumar V. L.* Alpha adrenergic blockers in the treatment of benign hyperplasia of the prostate / Kumar V. L., Dewan S. // *Int. Urol. Nephrol.* – 2000.–V. 32, № 1. – P. 67–71.
9. *Liebmann C.* EGF receptor activation by GPCRs: an universal pathway reveals different version / Liebmann C. // *Mol. Cell Endocrinol.* – 2011.–V. 331, № 2. – P. 222–231.
10. *Bhola N. E.* Crosstalk between G-protein-coupled receptors and epidermal growth factor receptor in cancer / Bhola N. E., Grandis J. R. // *Front. Biosci.* – 2008.–V. 1, № 13. – P. 1857–1865.
11. *Mosmann T.* Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays / Mosmann T. // *Journal of Immunological Methods.* – 1983. – V. 1–2, № 65. – P. 55–63.
12. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ / Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К. [и др.] // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей ред. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2005. – С. 637–651.

Н. О. Мешкова, О. В. Мищенко, В. В. Захаренко, Н. І. Шарикіна **Цитостатична дія α_1 -адреноблокаторів – похідних хіназоліну**

α_1 -Адреноблокатори хіназолінового ряду увійшли в клінічну практику як гіпотензивні засоби та засоби, що полегшують сечовипускання в разі доброякісних новоутворень передміхурової залози. Надалі було виявлено їхній вплив на певні форми пухлинного росту.

Мета дослідження – оцінити перспективи пошуку цитостатичних засобів серед похідних хіназоліну.

Проведено дослідження цитостатичної дії препаратів хіназолінового ряду (Празозин, Доксазозин), блокаторів α_1 -адренорецепторів (родини GPCR) порівняно з відомим блокатором активності сигнального шляху EGFR хіназолінового ряду Ерлотинібом.

Дослідження було проведено на клітинах недрібноклітинного раку легенів людини A549, що культивували в поживному середовищі RPMI-1640 (HyClone, США). Клітини висівали в 96-лунковий планшет у концентрації 2000 клітин на одну лунку. Термін культивації з препаратами (10 мг) – 5 діб. Оцінку цитотоксичної активності препаратів проводили в колориметричному тесті з використанням жовтого барвника (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію броміду (MTT) (Applichem, Німеччина).

Показано, що вивчені препарати Празозин та Доксазозин за цитотоксичною дією ($\log(\text{IC}_{50}) \leq -4$) на лінії недрібноклітинного раку легенів людини (A-549) перевищують чи близькі до Ерлотинібу: – 4,8, – 5,34, – 4,4 відповідно.

Належність досліджених препаратів і препарату стандарту Ерлотинібу до похідних хіназоліну, близькість їхньої цитостатичної дії вказує на аналогічні механізми дії на сигнальні шляхи рецепторів сімейства GPCR і EGFR та шляхи впливу на їхню трансактивацію.

Ключові слова: похідні хіназоліну, цитостатична дія, лінія недрібноклітинного раку легенів A-549, тест-стандарт Ерлотиніб

Н. А. Мешкова, О. В. Мищенко, В. В. Захаренко, Н. И. Шарыкина **Цитостатическое действие α_1 -адреноблокаторов – производных хиназолина**

α_1 -Адреноблокаторы хиназолинового ряда вошли в клиническую практику как гипотензивные средства и средства, облегчающие мочеиспускание при доброкачественных новообразованиях предстательной железы. В дальнейшем было обнаружено их влияние на определенные формы опухолевого роста.

Цель исследования – оценить перспективы поиска цитостатических средств среди производных хиназолина.

Проведено исследование цитостатического действия известных препаратов хиназолинового ряда (Празозин, Доксазозин), блокаторов α_1 -адренорецепторов (семейство GPCR) по сравнению с известным блокатором активности сигнального пути EGFR хиназолинового ряда Эрлотинибом.

Исследования были проведены на клетках немелкоклеточного рака легких человека A549, которые культивировались в питательной среде RPMI-1640 (HyClone, США). Клетки были высеваны в 96-луночный планшет в концентрации 2000 клеток на одну лунку. Срок культивации с препаратами (10 мг) – 5 суток. Оценку цитотоксической активности препаратов проводили колориметрически с использованием желтого красителя 3-(4,5 диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромидом (MTT) (Applichem, Германия).

Показано, что изученные препараты, Празозин и Доксазозин, по цитотоксическому действию ($\log(\text{IC}_{50}) \leq -4$) на линии немелкоклеточного рака легких человека (A-549) превышают или близки к Эрлотинибу: – 4.8, – 5.34, – 4.4 соответственно.

Принадлежность изученных препаратов и препарата стандарта Эрлотиниба к производным хиназолина, сопоставимость их цитостатического действия указывает на аналогичные механизмы действия на сигнальные пути рецепторов семейства GPCR и EGFR и пути влияния на их трансактивацию.

Ключевые слова: производные хиназолина, цитостатическая активность, линия немелкоклеточного рака легких A-549, тест-стандарт Эрлотиниб

N. Meshkova, O. Mischenko, V. Zakharenko, N. Sharykina

Cytostatic activity of quinazoline-derived α_1 -adrenoceptor antagonists

Quinazoline-derived α_1 -adrenoceptor antagonists were approved for clinical use as anti-hypertensive agents and for the treatment of lower urinary tract symptoms associated with benign prostate hyperplasia. They were further revealed to impact on some types of tumors.

The aim of the study – to assess prospects of research cytotoxic and anticancer agents among quinazoline derivatives.

This article represents results of the investigation of cytostatic activity of quinazoline derivatives (Prazosin, Doxazosin) with ability to block the activity of α_1 -adrenoceptor (GPCR family) in comparison with a well-known quinazoline-derived EGFR inhibitor Erlotinib.

Study was conducted using human lung cancer cell line A549, which were cultivated in the nutrient medium RPMI-1640 (HyClone, USA). The cells seeded into standard cell culture 96-well plates at a concentration of 2000 cells per well. Term of drugs exposition (10 mg) – 5 days. Evaluation of the cytotoxic activity of drugs was carried out in colorimetric test using yellow dye (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) (MTT) (Applichem, Germany).

Investigated drugs Prazosin and Doxazosin showed higher or similar cytostatic activity ($\log(\text{IC}_{50}) \leq -4$) than reference drug Erlotinib against A549 human lung cancer cell line: – 4.8, – 5.34, – 4.4.

The studied α_1 -adrenoceptor antagonists and reference drug Erlotinib belong to quinazoline-based compounds and possess high cytostatic activity, that indicate the analogous mechanisms of their action on the GPCR and EGFR signaling pathways and the effects on their transactivation.

Key words: quinazoline derivatives, cytostatic activity, human lung cancer cell line A549, reference drug Erlotinib

Надійшла: 03.05.2015 р.

Контактна особа: Мешкова Наталія Олександрівна, аспірант, відділ онкофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 94 65. Електронна пошта: mischenkov1b@yandex.ua

Н. М. Серединська, О. Є. Ядловський, Т. А. Бершова,
З. П. Омеляненко, В. С. Хоменко, Л. М. Киричок

Оцінка інтегральних показників життєдіяльності в щурів за умов комбінованого застосування нестероїдних протизапальних засобів та антагоніста кальцію на моделі ревматоїдного артриту, поєднаного з артеріальною гіпертензією

ДУ «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: нестероїдні протизапальні засоби, антагоніст кальцію, ревматоїдний артрит, артеріальна гіпертензія

У сучасній медицині все більшу увагу приділяють станам із сукупністю двох і більше захворювань у одного пацієнта, що називаються коморбідністю (поліморбідністю, поєднаною патологією тощо) [1, 2]. Надання медичної допомоги таким пацієнтам потребує збільшення витрат системи охорони здоров'я на діагностичні обстеження та лікування. Поліморбідність збільшує термін госпіталізації, і вона є найчастішою причиною непрофільної госпіталізації хворих [3].

Надзвичайно розповсюдженим та небезпечним коморбідним станом вважають такий, що поєднує ревматоїдний артрит (РА) та артеріальну гіпертензію (АГ). Встановлено, що в понад 50 % хворих на РА реєструють АГ, а симптоми власне РА значно посилюються на тлі АГ [1]. Окрім того, ураження серцево-судинної системи за РА зустрічаються часто не лише в літніх, а й у молодих хворих [4, 5]. Саме АГ є одним з найважливіших факторів ризику кардіоваскулярних катастроф [6–8]. Хронічний перебіг як РА, АГ, так і коморбідного стану (РА, поєднаного з АГ), зміна періодів ремісії та загострення патологічного процесу в 90–95 % пацієнтів призводить до необхідності тривалого (часто пожиттєвого) застосування антигіпертензивних і нестероїдних протизапальних ліків (НПЗП). Водночас комбіноване застосу-

вання препаратів зазначених фармакотерапевтичних груп може викликати побічну дію (зумовлену, наприклад, вазо- та кардіотоксичним впливом НПЗП), зменшувати ефективність різних відносно ЦОГ-1 і ЦОГ-2 НПЗП або гіпотензивних засобів (інгібіторів АПФ, бета-блокаторів, зокрема) [6, 9, 10]. Механізми розвитку таких реакцій недостатньо вивчені й потребують пріоритетної уваги клініцистів та експериментаторів [7]. Актуальним і недостатньо вивченим є питання щодо токсичності НПЗП на тлі застосування з гіпотензивними ліками, зокрема, з антагоністами кальцієвих каналів дигідропіридинового ряду, що широко застосовуються за кардіоваскулярної патології [11, 12].

Мета дослідження – вивчити вплив НПЗП (диклофенаку та німесулід) за умов комбінованого застосування з амлодипіном на виживання, масу, коефіцієнти маси внутрішніх органів у білих щурів з експериментальним РА, поєднаним з АГ.

Матеріали та методи. Досліди проведено на статевозрілих нелінійних білих щурах обох статей з вихідною масою ($159,3 \pm 4,9$) г, яких утримували в пластикових клітках групами по 5–7 особин у кожній на стандартному комбікормовому раціоні харчування у віварії за умов вільного доступу до їжі та води за температури 22–26 °С, вологості повітря 65–75 %, звичайного світлового режиму «день-ніч».

Після акліматизації тварин (14 діб) було сформовано відповідні групи щурів. До першої групи входили

10 щурів (група інтактних тварин), яких утримували в лабораторному приміщенні в клітках на звичайному режимі харчування за умов вільного доступу до їжі та води впродовж того самого терміну, що й тварини інших груп. У тварин (170 щурів) шляхом сольового навантаження (сольове пиття – розчин натрію хлориду 1 % – з вільним доступом до нього впродовж 21 доби) викликали АГ [13]. Щурів, у яких розвинулася артеріальна гіпертензія впродовж 21 доби, розподіляли за наступними групами. До другої групи включено 57 білих щурів – тварини з артеріальною гіпертензією. До третьої групи входили тварини (35 щурів), яким на тлі розвинутої АГ (через 21 добу від початку сольового навантаження) одноразово вводили один з найрозповсюдженіших ад'ювантів, що вміщує вбиті туберкульозні мікобактерії, суспензовані в масляній фазі водної емульсії – повний ад'ювант Фрейнда (АФ) [14, 15]. У щурів четвертої групи (80 тварин) відтворювали модель ревматоїдного артриту (РА) одноразовим введенням АФ [16]. До п'ятої, шостої та сьомої груп входили тварини (по 13 щурів у кожній), яким на тлі АГ на 21 добу вводили АФ (коморбідна патологія), та розпочинали лікування, щоденно застосовуючи диклофенак (ДК), німесулід (НМ) та амлодипін (АМ) за відповідними групами протягом 60 діб. До восьмої та дев'ятої груп (по 13 щурів у кожній) віднесено тварин, яким на тлі коморбідної патології вводили ДК з АМ (8 група) та НМ з АМ (9 група) також протягом 60 діб.

Вибір НПЗП зумовлений, по-перше, широким їхнім застосуванням та різною селективністю відносно ЦОГ-1 та ЦОГ-2. По-друге, вочевидь, різні за останньою ознакою НПЗП по-різному впливають на ефективність антигіпертензивних препаратів. По-третє, кількість, характер та розвиток побічних реакцій у різних за селективністю до ЦОГ-1 та ЦОГ-2 НПЗП – різні [6, 9, 17].

Використання АМ як антигіпертензивного засобу є найвиправданішим з позицій доказової медицини і рекомендоване Європейським товариством кардіологів / Європейським товариством

гіпертензії (ESC/ESH), Об'єднаним національним комітетом 8 (СПА) (JNCA8) і Американським товариством гіпертензії / Міжнародним товариством гіпертензії (ASH/ISH) як засобу монотерапії, або в складі комбінацій [18]. Важливо, що АМ має великий період виведення за АГ (до 64 год), що забезпечує його тривалий ефект. Даний препарат не метаболізується в печінці, має високу біодоступність, що також може бути позитивним моментом за умов його комбінованого застосування з НПЗП, деяким з яких властивий гепатотоксичний ефект. Одним з найважливіших аспектів щодо обґрунтування вибору АМ є те, що саме він зберігає власну специфічну фармакологічну активність як гіпотензивний засіб за умов комбінованого застосування з НПЗП та проявляє знеболювальну дію на тлі експериментального РА [17, 19].

Зазначені лікарські засоби в дозах: ДК – 8 мг/кг, НМ – 15 мг/кг, АМ – 1,5 мг/кг маси тіла тварини вводили через спеціальний металевий зонд у шлунок у 1 % крохмальному клейстері.

За умов монотерапії ліки вводили в день одноразового застосування АФ через 60 хв після нього, а далі – щоденно, 1 раз на 1 добу (з 10 до 11 год). За умов комбінованої терапії з використанням препаратів різних фармакотерапевтичних груп (АМ з ДК або АМ з НМ) лікарські засоби вводили також щоденно, 1 раз на 1 добу (з 11 до 13 год), але по черзі, один за одним, з інтервалом у 30 хв.

Тривалість спостереження за тваринами складала 81 добу після початку сольового навантаження (моделювання АГ), з них 60 діб – після введення АФ та від початку лікування. Саме такий термін спостереження та відповідні дні реєстрації загибелі тварин (вихідні дані, що відповідають 21 добі АГ, а також через 7, 14, 21, 28, 42, 60 діб після введення АФ і щоденного введення ДК, НМ та АМ) зумовлені фазністю патологічного процесу – власне РА [14]. Так на (7–14) добу спостерігається максимум розвитку місцевої реакції на введення АФ; (14–35–42) доба є термінами, коли відбувається генералізація експериментального РА; період від

42 до 60 доби характеризується як згасанням патологічного процесу, що виник за умов одноразового введення патогенного фактора (повного АФ).

Статистичну обробку отриманих даних представлено у вигляді середньо-арифметичного й стандартної похибки ($M \pm m$) з урахуванням кількісної вибірки (n) та визначенням t -критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. За умов розвитку експериментального РА упродовж 60 діб після одноразового застосування АФ не спостерігали загибелі тварин (табл. 1).

На тлі розвитку АГ було зареєстровано загибель двох тварин із 170 (тварини, у яких викликали АГ), що становило 1,2 % після 21 доби спостереження (сольового навантаження) за суттєвої втрати їхньої ваги. Однак, на нашу думку, закономірного характеру процес загибелі щурів на тлі формування АГ шляхом сольового навантаження не має. За умов коморбідної патології не реєстрували загибелі щурів упродовж

усього терміну спостереження (21 доба – формування моделі АГ + 60 діб після введення АФ та засобів терапії; табл. 1).

Застосування ДК призводило до загибелі трьох тварин (з 35) на тлі розвитку експериментального РА впродовж перших 7 діб; за наступні 7 діб (тобто, до 14 доби) загинуло ще 5 тварин; загибель тварин продовжувалася й до 21 доби спостереження – загинуло ще 3 щури (табл. 1). Загальна кількість загиблих тварин цієї групи – 11 щурів (або 31,4 %). Таким чином, застосування ДК на тлі експериментального РА призводило до загибелі тварин на відміну від групи щурів, яким було введено повний АФ.

Застосування ДК на тлі коморбідної патології значно підвищувало смертність тварин – до 77 % (табл. 1). Слід зауважити, що за застосування ДК як на тлі лише експериментального РА, так і за умов розвитку коморбідної патології найбільша кількість тварин гинула впродовж 21 доби після застосування АФ.

Застосування АМ як засобу монотерапії не призводило до загибелі щурів

Таблиця 1

Вживання[#] тварин на тлі коморбідної патології за умов застосування диклофенаку, німесуліді та амлодипіну

Група тварин та показник	Термін формування артеріальної гіпертензії, доба				Термін спостереження після введення ад'юванта Фрейнда та засобів терапії на тлі артеріальної гіпертензії, доба						
	вих.	7	14	21	+7	+14	+21	+28	+42	+60	всього загинуло в групі
Інтактні тварини	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0/10
Артеріальна гіпертензія	57	57	57	57	55	55	55	55	55	55	2/57
Відсоток загиблих											3,5
↓введення ад'юванта Фрейнда +терапія (у відповідних групах)											
Ад'ювант Фрейнда	–	–	–	–	80	80	80	80	80	80	0/80
Відсоток загиблих					0	0	0	0	0	0	0
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	0/35
Відсоток загиблих		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Група тварин та показник	Термін формування артеріальної гіпертензії, доба				Термін спостереження після введення ад'юванта Фрейнда та засобів терапії на тлі артеріальної гіпертензії, доба						
	вих.	7	14	21	+7	+14	+21	+28	+42	+60	всього загинуло в групі
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + диклофенак	13	13	13	13	9	6	5	4	3	3	10/13
Відсоток загиблих		0	0	0	31	33	17	20	25	0	77
Ад'ювант Фрейнда + диклофенак	35	–	–	–	32	27	24	24	24	24	11/35
Відсоток загиблих					8,6	18,0	11	0	0	0	31,4
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + німесулід	13	13	13	13	12	12	12	12	12	12	1/13
Відсоток загиблих		0	0	0	7,7	0	0	0	0	0	7,7
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + амлодипін	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	0
Відсоток загиблих		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + диклофенак + амлодипін	13	13	13	13	8	4	3	3	3	2	11
Відсоток загиблих		0	0	0	38	50	25	0	0	33	85
Ад'ювант Фрейнда + диклофенак + амлодипін	40	-	-	-	39	31	29	20	11	9	31/40
Відсоток загиблих					2,5	20,5	12,9	31	45	18	77,5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + німесулід + амлодипін	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	0/13
Відсоток загиблих		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примітка. #кількість тварин, що вижили на відповідний термін.

Маса тіла тварин з коморбідною патологією на тлі моно- та комбінованої терапії, г ($M \pm m$)

Група тварин	Термін спостереження, доба терапії					
	вих. &	7	14	28	42	60
Інтактні тварини, n = 10	173,4 ± 8,2	178,4 ± 11,5	183,6 ± 4,8	195,0 ± 10,5	201,0 ± 6,1*	231,7 ± 21,0*
Артеріальна гіпертензія n	152,1 ± 2,1 40	182,9 ± 3,5* 16	189,2 ± 3,7* 16	186,6 ± 4,7* 8	192,6 ± 5,2* 8	–
Ад'ювант Фрейнда, n = 30	164,1 ± 3,9	177,3 ± 4,7	189,7 ± 4,2	214,0 ± 7,8*	225,3 ± 14,8*	214,6 ± 13,6*
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда n	156,3 ± 5,2 10	164,9 ± 6,6 10	183,7 ± 10,1 8	211,2 ± 9,9* 5	248,3 ± 13,1* [#] 5	270,0 ± 20,1* 5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + диклофенак n	165,2 ± 7,4 13	174,1 ± 5,6 10	189,2 ± 5,3 5	196,7 ± 17,7 2	219,5 ± 14,4* 2	267,0 ± 13,7* 2
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + німесулід n	166,7 ± 4,1 13	172,7 ± 5,3 12	167,4 ± 5,4 10	187,4 ± 11,4 8	196,8 ± 114,4 6	210,0 ± 12,3* 4
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + амлодипін n	165,0 ± 4,5 13	172,0 ± 5,9 13	176,2 ± 6,8 10	186,9 ± 12,2 7	213,6 ± 12,2* 5	208,8 ± 10,9* 3
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + диклофенак + амлодипін n	161,5 ± 5,9 13	174,2 ± 6,2 8	179,6 ± 11,2 4	186,0 ± 14,9 3	193,3 ± 7,5* 3	213,5 ± 9,25* ^Δ 2
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + німесулід + амлодипін n	176,0 ± 5,3 13	179,0 ± 5,4 13	186,1 ± 8,4 10	202,0 ± 7,3* 7	217,0 ± 11,1* 4	242,5 ± 19,7* 4

Примітка. * $p \leq 0,05$ у відповідний термін відносно вихідних даних; [#] $p \leq 0,05$ у відповідний термін відносно даних у інтактних тварин; ^Δ $p \leq 0,05$ у відповідний термін відносно даних у тварин, яким застосовували лише ДК; ^Δдані відповідають 21 добі від початку сольового навантаження (модель сформованої АГ).

на тлі поєднаної патології, однак на тлі експериментального РА за умов застосування АМ з ДК відзначалося різке зростання смертності щурів: 77,5 % тварин загинуло впродовж 60 діб спостереження. Комбіноване застосування АМ з ДК за коморбідної патології також призводило до високої летальності тварин – 85 %; слід підкреслити, що загибель щурів реєстрували лише впродовж 21 доби після уведення АФ.

Застосування НМ на тлі АГ, поєднаної з експериментальним РА, призводило до загибелі 7,7 % щурів (загинула 1 тварина з 13) у гострий період розвитку експериментального РА (впродовж 7 діб). За даними попередніх досліджень, комплексне застосування НМ з АМ за умов експериментального РА також викликало загибель 7,5 % тварин. На відміну від монопатології (експериментального РА), застосування

**Коефіцієнт маси тимуса на тлі коморбідної патології за умов моно-
та комбінованої терапії НПЗП та антагоністом кальцію**

Група тварин	Термін спостереження, доба терапії					
	вих. &	7	14	28	42	60
Інтактні тварини	0,120 ± 0,010	0,140 ± 0,009	0,130 ± 0,010	0,140 ± 0,020	0,130 ± 0,010	0,140 ± 0,009
n	10	10	10	10	10	10
Ад'ювант Фрейнда	0,120 ± 0,010	0,140 ± 0,019	0,200 ± 0,019*	0,260 ± 0,021*	0,240 ± 0,027*	0,150 ± 0,016
n	10	10	10	10	10	10
Артеріальна гіпертензія	0,150 ± 0,012	–	–	0,150 ± 0,012	0,160 ± 0,004	0,150 ± 0,010
n	5			5	5	5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда	0,150 ± 0,012	0,110 ± 0,020	0,130 ± 0,060	0,170 ± 0,030#	–	0,080 ± 0,003*#&
n	5	5	5	5		5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + диклофенак	0,150 ± 0,012	0,095 ± 0,003*	0,100 ± 0,008*#	0,140 ± 0,012#	–	0,089 ± 0,001*#&
n	5	5	5	5		5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + німесулід	0,150 ± 0,012	0,110 ± 0,001*	0,170 ± 0,006	0,160 ± 0,018#	0,11 ± 0,001*#&	0,079 ± 0,006*#&
n	5	5	5	5	5	5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + амлодипін	0,150 ± 0,012	0,090 ± 0,003*#	0,140 ± 0,002#	0,130 ± 0,001#&	0,130 ± 0,001#&	0,087 ± 0,002*#&
n	5	5	5	5	5	5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + диклофенак + амлодипін	0,150 ± 0,012	0,100 ± 0,001*#	–	–	–	0,082 ± 0,012*#&
n	5	5				5
Артеріальна гіпертензія + ад'ювант Фрейнда + німесулід + амлодипін	0,150 ± 0,012	0,110 ± 0,001*	0,150 ± 0,006#	0,110 ± 0,002*#&	0,110 ± 0,002*#&	0,102 ± 0,007*#&@
n	5	5	5	5	5	4

Примітка. * $p \leq 0,05$ порівняно з вихідним його значенням; # $p \leq 0,05$ порівняно з групою контрольних тварин, яким уведено лише АФ; & $p \leq 0,05$ порівняно з групою контрольних тварин з АГ; ^ $p \leq 0,05$ порівняно з групою контрольних тварин з поєднаною патологією; @ $p \leq 0,05$ порівняно з групою тварин, яких лікували лише ДК або лише НМ.

НМ з АМ на тлі коморбідної патології не викликало загибелі тварин.

У тварин з експериментальним РА відмічався приріст маси тіла, однак у період згасання патологічного процесу повний АФ призводив до зниження цього показника (табл. 2), про що свідчило його значення ($214,6 \pm 13,6$) г на

60 добу спостереження, при тому, що на 42 добу була зареєстрована вища маса тіла тварин – ($225,3 \pm 14,8$) г.

У тварин з поєднаною патологією реєстрували приріст маси тіла впродовж усього терміну спостереження, навіть дещо вищий, ніж у інтактних щурів.

Досліджувані лікарські засоби (за самостійного та комбінованого застосування) сприяли збільшенню маси тіла тварин за умов поєднаної патології.

Отже, такі самостійні патологічні стани, як експериментальний РА та АГ негативно не впливають на масу тіла тварин. Суттєвої зміни цього показника не відбувається й за умов коморбідної патології, хоча певний приріст маси тіла за цих умов може пояснюватися утриманням води в організмі на тлі сольового навантаження. Зміни коефіцієнтів маси майже всіх органів тварин не мали закономірного характеру й не були значущими за умов поєднаної патології. За умов експериментального РА були зареєстровані зміни коефіцієнта маси органу, відповідального за імунний статус – тимуса, що є, по-суті, унікальним органом нейроендокринної та імунної систем, здатним продукувати різні біологічно активні речовини, що відіграють основну роль, зокрема, за імунологічних процесів [20].

На нашу думку, зміна коефіцієнта маси тимуса зумовлена патогенним фактором, адже РА, на думку численних дослідників, як зазначалося вище, є імунним захворюванням. АФ призводив до суттєвого зростання коефіцієнта маси тимуса впродовж 42 діб спостереження, а в подальші терміни спостереження, коли відбувається згасання патологічного процесу, викликаного одноразовим введенням патогенного агента, коефіцієнт маси даного органа знижувався до вихідних значень (табл. 3). Результати електронно-мікроскопічного дослідження свідчать про розвиток у клітинах тимуса на тлі експериментального РА зворотних змін, характерних для гідропічної дистрофії [20]. Власне АГ не викликала зміни коефіцієнта маси тимуса. Упродовж маніфестації експериментального РА за умов коморбідної патології спостерігали зростання досліджуваного показника на 13 % відносно вихідних даних (у тварин із сформованою АГ – 21 доба), водночас, період згасання експериментального РА (до 60 доби) на тлі АГ характеризувався суттєвим зниженням коефіцієнта маси тимуса на 47 % не лише відносно вихідних даних, а й до таких, які реєстрували у

тварин лише з експериментальним РА і у тварин лише з АГ.

Вочевидь, імунний статус тварин з поєднаною патологією суттєво змінюється; зменшення коефіцієнта маси тимуса може бути свідченням виснаження (пригнічення) імунних властивостей організму щурів за даної коморбідної патології.

Досліджувані засоби терапії за умов монотерапії призводили до зниження коефіцієнта маси тимуса через 7 діб після введення АФ та початку лікування. У подальший період (до 42 доби) відбувалося поступове відновлення зазначеного показника до вихідного значення. Цей самий період (до 42 доби) характеризується й тим, що власне АГ та досліджувані НПЗП і антагоніст кальцію не призводили до зростання коефіцієнта маси тимуса, що відбувалося за умов лише експериментального РА (достовірна різниця між зазначеним показником у тварин з експериментальним РА та в тварин лише з АГ, або тих, що отримували ДК, НМ, АМ). У період згасання власне експериментального РА (після 45 доби) на тлі АГ, а також за умов монотерапії ДК, НМ та АМ спостерігали різке зниження коефіцієнта маси тимуса на 47, 41, 47 та 42 % відповідно (60 доба, табл. 3).

Комбіноване застосування ДК з АМ також призводило до зниження коефіцієнта маси тимуса в гострий період експериментального РА та сприяло подальшому різкому його зменшенню у період згасання ад'ювантної хвороби на тлі АГ, причому ці зміни були статистично значущими порівняно з показником у тварин лише з РА та лише з АГ.

У випадку застосування НМ з АМ спостерігали достовірне підвищення даного показника відносно відповідного значення в тварин з поєднаною патологією та тих, що отримували лише НМ (60 доба, табл. 3). Водночас, комбіноване застосування НМ з АМ не сприяло відновленню коефіцієнта маси тимуса до вихідного значення.

За аналізом результатів, отриманих за дослідження впливу НПЗП та антагоніста кальцію на імунокомпетентний орган (тимус) на тлі коморбідної патології, визначено, що суттєвий коригуючий

вплив на величину коефіцієнта маси тимуса спричинює НМ та АМ за умов їхнього комбінованого застосування. Слід зазначити, що в науковій літературі зустрічаються дані щодо коригуючого впливу антагоністів кальцію дигідропіридинового ряду (зокрема, ніфедипіну) на тимус за умов артеріальної гіпертензії. До речі, за даними деяких дослідників, механізм розвитку АГ розцінюється як автоімунний процес [21].

Висновки

1. Диклофенак як на тлі експериментального ревматоїдного артриту, так і за умов розвитку ад'ювантного артриту на фоні артеріальної гіпертензії призводить до високої смертності тварин. Амлодипін за умов

комбінованого застосування з диклофенаком не лише не зменшує смертність тварин, а й сприяє її підвищенню на тлі експериментального ревматоїдного артриту, поєданого з артеріальною гіпертензією. За умов застосування німесулід у тлі коморбідної патології відзначається значно нижча летальність щурів, а використання амлодипіну з німесулідом забезпечує тварин від загибелі.

2. Самостійні патологічні стани – експериментальна артеріальна гіпертензія та ревматоїдний артрит, а також коморбідний стан негативно не впливають на масу тіла тварин.

3. Німесулід та амлодипін чинять коригуючий вплив на величину коефіцієнта маси тимуса за умов експериментального РА, поєданого з АГ.

1. Березняков И. Г. Остеоартроз, артериальная гипертензия и ожирение: проблема коморбидности / И. Г. Березняков, И. В. Корж // Международный медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 78–81.
2. Коморбідна патологія у хворих на артеріальну гіпертензію в амбулаторно-поліклінічній практиці / О. П. Букач, М. В. Антонюк, Л. П. Сидорчук [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2013. – V. 17, № 4 (68). – Р. 26–31.
3. Campbell-Scherer D. Multimorbidity: a challenge for evidence-based medicine / D. Campbell-Scherer // Evid. Based Med. – 2010. – V. 15, № 6. – Р. 165–166.
4. Каратеев А. Е. Применение нимесулида в ревматологии / А. Е. Каратеев // Трудный пациент. – 2010. – № 6–7. – С. 24–29.
5. Каратеев А. Е. Целекоксиб, эторикоксиб, мелоксикам и нимесулид: достоинства и недостатки / А. Е. Каратеев // Ревматология. Травматология. Ортопедия. – 2011. – № 1. – С. 9–19.
6. Родионов А. В. Нестероидные противовоспалительные препараты и артериальная гипертензия: актуальность проблемы и тактика ведения пациентов / А. В. Родионов // Лечащий врач. – 2013. – № 2. – С. 25–31.
7. Luque M. Use of Non-Steroidal anti-inflammatory drugs does not modify the antihypertensive effect of Lercanidipine in essential hypertension / M. Luque, A. Navarro, N. Martell // Brit. J. Cardiol. – 2006. – V. 13, № 5. – Р. 353–359.
8. Nikitina N. M. Cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis / N. M. Nikitina, A. P. Rebrov // Ter. Arkh. – 2009. – V. 81, № 6. – Р. 29–34.
9. Бобров В. А. Актуальные вопросы лекарственных взаимодействий в клинической практике. Как выбрать оптимальный ингибитор АПФ для больного, принимающего НПВС? / В. А. Бобров, И. В. Давыдова, О. И. Медведев // Укр. мед. часопис. – 2010. – Т. 75, № 1. – С. 43–48.
10. Новикова Д. С. Современные представления о патогенезе и особенности лечения артериальной гипертензии при ревматоидном артрите (обзор) / Д. С. Новикова, Т. В. Попкова, Е. Л. Насонов // Тер. арх. – 2011. – № 5. – С. 24–33.
11. Березин А. Е. Терапевтический потенциал амлодипина у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями / А. Е. Березин // Укр. мед. часопис. – 2013. – Т. 94, № 2. – С. 101–106.
12. Савустьяненко А. В. Фармакологические и терапевтические аспекты применения амлодипина / А. В. Савустьяненко // Артериальная гипертензия. – 2010. – № 3. – С. 45–49.
13. Badyal D. K. Animal models of hypertension and effect of drugs / D. K. Badyal, H. Lata, A. P. Dadhich // Indian J. Pharmacol. – 2003. – № 35. – Р. 349–362.
14. Саратиков А. С. Адьювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия) / А. С. Саратиков, А. И. Венгеровский, Т. П. Прищеп. – Томск, 1983. – 104 с.
15. Tanushree R. Animal models of rheumatoid arthritis: correlation and usefulness with human rheumatoid arthritis / R. Tanushree, G. Saikat // Am. J. Pharm. Res. – 2013. – V. 3, № 8. – Р. 6131–6142.
16. Animal models of rheumatoid arthritis / L. A. Darren, M. M. Ashley, B. McInain, Y. L. Foo // Eur. J. Immunol. – 2013. – V. 39, № 8. – Р. 2040–2044.
17. Серединська Н. М. Кардіотропна дія інгібіторів ЦОГ-1 та ЦОГ-2 за умов їх комплексного застосування з антагоністом кальцію дигідропіридинового ряду на моделі ревматоїдного артриту / Н. М. Серединська, Г. В. Павлюк // Ж-л Академії медичних наук. – 2013. – № 3. – С. 297–306.

18. Долженко М. Н. Различия в ведении пациентов с артериальной гипертензией в европейских и американских рекомендациях: украинский выбор / М. Н. Долженко // Здоров'я України. – 2014. – № 15–16 (340–341). – С. 17–18.
19. Серединская Н. Н. Анальгетическая активность Амлодипина при адьювантном артрите / Н. Н. Серединская, А. В. Павлюк, Л. М. Киричок // Curierul medical. – 2013. – V. 56, № 4. – P. 28–31.
20. Каладзе Н. Н. Морфогенез ткани тимуса у экспериментальных животных с моделированным адьювантным артритом / Н. Н. Каладзе, А. К. Загоруйко, Э. Я. Меметова // Здоровье ребенка. – 2011. – № 1 (28). – С. 59–63.
21. Autoimmunity in the pathogenesis of hypertension / B. Rodríguez-Iturbe, H. Pons, Y. Quiroz [et al.] // Nat. Rev. Nephrol. – 2014. – № 10. – P. 56–62.

**Н. М. Серединська, О. Є. Ядловський, Т. А. Бершова, З. П. Омеляненко,
В. С. Хоменко, Л. М. Киричок**

**Оцінка інтегральних показників життєдіяльності в щурів за умов
комбінованого застосування нестероїдних протизапальних засобів
та антагоніста кальцію на моделі ревматоїдного артриту, поєднаного
з артеріальною гіпертензією**

Актуальність питання щодо вивчення токсичності НПЗП на тлі застосування з гіпотензивними ліками зумовлена необхідністю комбінованого застосування препаратів зазначених груп на тлі коморбідної патології – ревматоїдного артриту та артеріальної гіпертензії. *Мета дослідження* – вивчити вплив НПЗП (диклофенаку та німесулід) за умов комбінованого застосування з амлодипіном на виживання, масу тіла, коефіцієнти маси внутрішніх органів у білих щурів з експериментальним ревматоїдним артритом, поєднаним з артеріальною гіпертензією.

Встановлено, що за умов коморбідної патології не реєстрували загибелі щурів упродовж усього терміну спостереження. Застосування диклофенаку на тлі коморбідної патології призводило до смертності тварин, що становила 77 %. Комбіноване застосування амлодипіну з диклофенаком за коморбідної патології також призводило до високої летальності тварин – 85 %. Застосування німесулід на тлі коморбідного стану призводило до загибелі 7,7 % щурів у гострий період розвитку артриту. Комбіноване застосування німесулід з амлодипіном за умов коморбідної патології не викликало загибелі тварин.

У тварин з експериментальним ревматоїдним артритом та на тлі зазначеного патологічного стану, поєднаного з артеріальною гіпертензією, відмічали приріст маси тіла впродовж усього терміну спостереження. Досліджувані лікарські засоби за самостійного та комбінованого застосування негативно не впливали на зазначений показник на фоні поєднаної патології.

Зміни коефіцієнтів маси всіх органів тварин, за виключенням тимуса, не мали закономірного характеру і не були значущими за умов коморбідної патології. Артеріальна гіпертензія не викликала зміни коефіцієнта маси тимуса. Упродовж маніфестації експериментального ревматоїдного артриту за умов коморбідної патології спостерігали зростання досліджуваного показника на 13 % відносно вихідних даних, а період згасання запального процесу на тлі артеріальної гіпертензії характеризувався суттєвим зниженням коефіцієнта маси тимуса на 47 % не лише відносно вихідних даних, а й до таких, які реєстрували в тварин лише з експериментальним ревматоїдним артритом і в тварин лише з артеріальною гіпертензією.

Зменшення коефіцієнта маси тимуса може бути свідченням виснаження (пригнічення) імунних властивостей організму щурів за даної коморбідної патології.

За аналізом результатів, отриманих за дослідження впливу НПЗП та антагоніста кальцію на тимус на тлі коморбідної патології, визначено, що суттєвий коригуючий вплив на величину коефіцієнта маси тимуса спричинює німесулід та амлодипін за умов їхнього комбінованого застосування.

Ключові слова: нестероїдні протизапальні засоби, антагоніст кальцію, ревматоїдний артрит, артеріальна гіпертензія

**Н. Н. Серединская, О. Е. Ядловский, Т. А. Бершова, З. П. Омеляненко,
В. С. Хоменко, Л. М. Киричок**

**Оценка интегральных показателей жизнедеятельности у крыс при
комбинированном применении нестероидных противовоспалительных
средств и антагониста кальция на модели ревматоидного артрита,
сочетанного с артериальной гипертензией**

Актуальность вопроса об изучении токсичности НПВС на фоне применения с гипотензивными средствами обусловлена необходимостью комбинированного применения препаратов указанных групп при коморбидной патологии – ревматоидном артрите и артериальной гипертензии. *Цель исследования* – изучить влияние НПВС (диклофенака и нимесулида) при комбинированном применении с амлодипином на выживание, массу тела, коэффициенты массы внутренних органов у белых крыс с экспериментальным ревматоидным артритом, сочетанным с артериальной гипертензией.

Установлено, что при коморбидной патологии не регистрируется гибель крыс в течение всего срока наблюдения. Применение диклофенака на фоне коморбидной патологии приводило к смертности животных, которая составляла 77 %. Комбинированное применение амлодипина с диклофенаком также приводило к высокой смертности животных – 85 %. Применение нимесулида приводило к гибели 7,7 % крыс в острый период развития артрита. Комбинированное применение нимесулида с амлодипином при коморбидной патологии не вызывало гибели животных.

У животных с экспериментальным ревматоидным артритом, и при сочетанной патологии отмечали прирост массы тела в течение всего срока наблюдения. Исследуемые лекарства (моноприменение и комбинированное применение) отрицательно не влияли на изучаемый показатель на фоне коморбидной патологии.

Изменения коэффициентов массы органов у животных (кроме тимуса), не имели закономерного характера, не были значимыми при коморбидной патологии. Артериальная гипертензия не вызывала изменений коэффициента массы тимуса. В период манифестации экспериментального ревматоидного артрита при коморбидной патологии наблюдали увеличение этого показателя на 13 % по отношению к исходным данным, а период угасания воспалительного процесса на фоне артериальной гипертензии характеризовался существенным снижением коэффициента массы тимуса на 47 % не только по отношению к исходным данным, а и к тем, которые регистрировали у животных только с экспериментальным ревматоидным артритом и только с артериальной гипертензией.

Уменьшение коэффициента массы тимуса может быть свидетельством истощения (угнетения) иммунных свойств организма животных при коморбидной патологии.

Полученные результаты по исследованию влияния НПВС и антагониста кальция дигидропиридинового ряда на тимус на фоне коморбидной патологии у крыс позволили определить существенное корригирующее действие на величину коэффициента массы тимуса нимесулида и амлодипина при комбинированном применении.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, антагонист кальция, ревматоидный артрит, артериальная гипертензия

**N. M. Seredinska, O. E. Yadlovskiy, T. A. Bershova, Z. P. Omelyanenko,
V. S. Khomenko, L. M. Kirichok**

**The evaluation of rat's integral indices after combined use of NSAIDs
and calcium antagonist at the rheumatoid arthritis model in conjunction
with arterial hypertension**

The actuality of issue of the NSAIDs toxicity during treatment with antihypertensive agents is due to the need of the combined use of such drugs when comorbid diseases – rheumatoid arthritis and hypertension. The aim of work was to study the effect of NSAIDs (diclofenac and nimesulide) combined with amlodipine on survival, body weight, weight ratios of the internal organs of white rats with experimental rheumatoid arthritis combined with hypertension.

There were no deaths of rats during the entire period of observation at the comorbid pathology. Diclofenac use in comorbid pathology led to high mortality of animals (77 %), as well as amlodipine and diclofenac – to 85 %. Treatment by nimesulide led to the rats death of 7,7 % at the acute phase of arthritis. The combined use of nimesulide with amlodipine did not cause the death of animals with comorbid pathology.

The animals with experimental rheumatoid arthritis and associated pathology had normal body weight during the observation period. The investigated medicines (mono and combined administration) didn't lethally effect on the studied indexes under comorbid disorders.

The changes of animal organs weight ratios (except of the thymus) did not have a regular nature, they were not significant under comorbid pathology. The hypertension does not cause changes in thymus weight ratio. It was increased by 13 % as to the original data during manifestation of experimental rheumatoid arthritis under comorbed pathology. In the waning days of the inflammatory process in the background of the arterial hypertension was a significant decrease in the thymus ratio weight by 47 % to the original data and to groups with experimental rheumatoid arthritis and hypertension only.

The thymus ratio weight decrease may be evidence of exhaustion (oppression) immune properties of the organism with comorbid pathology.

These results indicate a significant corrective effect of nimesulide combined with amlodipine on the thymus weight ratio in rats with comorbid pathology.

Key words: NSAIDs, calcium antagonist, rheumatoid arthritis, arterial hypertension

Надійшла: 12.05.2015 р.

Контактна особа: Серединська Н. М., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.

П. В. Сімонов

Дослідження гострої токсичності наночастинок міді при внутрішньошлунковому введенні мишам

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

Ключові слова: наночастинок металів, мідь, безпека, гостра токсичність, внутрішньошлункове введення, миші

Сьогодні глобальною проблемою медицини є антибіотикорезистентність. Усе більше збудників внутрішньолікарняних та навіть позалікарняних інфекцій стають нечутливими до одного або декількох протимікробних лікарських засобів. У 2011 році в третині країн Європи відмічено стрімке зростання кількості штамів мікроорганізмів, резистентних одразу до цефалоспоринів III покоління, фторхінолонів та аміноглікозидів [1].

З огляду на наявність даної проблеми доцільною є розробка та впровадження в медичну практику лікарських засобів принципово нового класу, резистентності мікроорганізмів до яких мало виражена або відсутня. Одними з можливих кандидатів на роль таких медикаментів можуть бути наночастинок металів [2, 3]. Відомо, що наночастинок міді (НЧМ) різного розміру, форми, хімічного складу та синтезовані за різною технологією проявляють виражені протимікробні властивості відносно широкого спектра бактерій, вірусів та грибів. Зокрема, існують дані про вплив такого наноматеріалу на антибіотикорезистентні штами бактерій [4–6].

В Інституті біологічної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України (м. Київ) за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині синтезовані наночастинок нуль-валентної міді розміром 20 нм та 40 нм та спільно зі співробітниками кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (м. Київ) проведено дослідження протимікробної дії даних НЧМ

in vitro відносно патогенних тест-штамів та клінічних ізолятів мікроорганізмів – збудників інфекційно-запальних процесів різної локалізації. Встановлено, що досліджувані субстанції мають виражену антибактеріальну та фунгіцидну активність, зокрема, біоцидно впливають на штам метицилін-резистентного *Staphylococcus aureus* MRSA ATCC 43300. Важливим є факт встановлення протимікробної дії НЧМ відносно клінічних ізолятів збудників інфекційно-запальних процесів, адже такі мікроорганізми часто є резистентними до відомих антибіотиків [7].

Отже, доцільним є проведення досліджень фармакологічних та токсикологічних властивостей НЧМ для подальшого впровадження даної субстанції в медичну практику.

Важливим етапом створення нового лікарського засобу є проведення комплексу доклінічних досліджень, серед яких особливе значення має визначення гострої токсичності. *Мета дослідження* – визначення параметрів гострої токсичності НЧМ в експерименті на лабораторних мишах при внутрішньошлунковому введенні.

Матеріали та методи. Стабільні сферичні наночастинок нуль-валентної міді розміром 20 нм синтезовані в Інституті біологічної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині. До субстанції наданий паспорт безпеки наноматеріалу, згідно з яким НЧМ не виявляють генотоксичних, мутагенних та цитотоксичних властивостей *in vitro* та є безпечними за біохімічними маркерами, такими як аденозинтрифосфатазна та лактатдегідрогеназна активність [8].

Дослідження проведені на 48 самках білих лабораторних мишей лінії BALB/c масою 18–22 г віком 2,0–2,5 місяця

(далі – миші) із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 року, Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», та Закону України від 21 лютого 2006 року № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Тварин, залучених до експерименту, утримували в стандартних умовах віварію за температури повітря 22–24 °C та відносної вологості 50–70 % з вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації. Період карантину та акліматизації тривав 7 діб. План експерименту схвалений Комітетом з біоетики Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, дотримані.

Дослідження гострої токсичності речовини при внутрішньошлунковому введенні проведено згідно з методичними рекомендаціями [9]. НЧМ вводили внутрішньошлунково в 7 рівнях доз по 6 тварин у кожному (1000, 1260, 1580, 2000, 2500, 3160 та 3980 мг/кг у перерахунку на метал). Логарифмічна шкала доз застосована для уможливлення спостереження більш плавного біологічного відгуку та рекомендована при проведенні оцінки біологічних ефектів досліджуваних речовин [10, 11]. Для отримання розчинів НЧМ різної концентрації вихідну субстанцію розводили водою для ін'єкцій.

Контрольну групу складали 6 мишей, яким внутрішньошлунково вводили розчинник – воду для ін'єкцій у об'ємі 0,8 мл, що відповідає максимально допустимому об'єму згідно з методичними рекомендаціями [9].

Протягом 3–4 год перед введенням досліджуваної речовини або розчинни-

ка тварин утримували без корму з вільним доступом до води. Уведення здійснювали одноразово за допомогою металевого зонда. Об'єм введення речовин визначали з розрахунку 0,8 мл на 20,0 г маси тіла тварини.

Після внутрішньошлункового введення досліджуваної речовини або розчинника протягом 14 діб проводили щоденне спостереження за станом тварин, особливостями поведінки, положенням тіла та руховою активністю, споживанням корму та води. Реєстрували терміни розвитку та характер симптомів інтоксикації та випадки смерті. Маса тварин визначали перед введенням та на 3, 7 і 14 (перед евтаназією) добу спостереження. У результатах даних показник представлений у відносних одиницях, за одиницю (1,000) обрані вихідні значення маси тіла тварин. Це дозволило знехтувати відмінностями між вихідними значеннями для більш наочного відстеження динаміки змін параметра в дослідних групах порівняно з контролем.

Одразу після загибелі мишей або виведення останніх з експерименту проводили розтин з подальшим візуальним визначенням розмірів, забарвлення, взаємного розташування органів та інших ознак, що можуть вказувати на токсичний вплив досліджуваної речовини.

Протягом випробування здійснювали реєстрацію та підрахунок загиблих тварин у кожному з рівнів доз. На основі отриманих даних проводили пробіт-аналіз результатів за D. J. Finney [12] із застосуванням комп'ютерної програми BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) компанії AnalystSoft Inc. Отримували значення середньої смертельної дози (LD_{50}) зі стандартною помилкою.

При визначенні впливу досліджуваної субстанції або розчинника на динаміку зміни маси тіла тварин статистичну обробку даних проводили з застосуванням тесту Манна-Уїтні для порівняння незалежних вибірок та парного двовибіркового t-тесту для середніх для порівняння залежних вибірок за допомогою програм BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) компанії AnalystSoft Inc. та Microsoft Office Excel 2007 ком-

панії Microsoft. Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Результати окремих вимірювань представлені у відносних одиницях у вигляді середніх значень зі стандартними помилками.

Результати та їх обговорення. При внутрішньошлунковому введенні НЧМ спостерігали дозозалежний вплив субстанції на зовнішній вигляд тварин, рухову активність, споживання води та корму. При застосуванні найменшої дози (1000 мг/кг) зазначені показники не відрізнялися від контролю.

У разі введення НЧМ у дозах 1260–2500 мг/кг у деяких тварин відмічали ознаки загальної інтоксикації – пригнічення рухової активності, пілоерекцію, виділення порфірину, опущення верхніх повік та зменшення споживання води та корму. Випадки смерті в даних групах спостерігали на першу добу експерименту.

При застосуванні доз 3160 мг/кг та 3980 мг/кг протягом першої години після введення в тварин відмічали гіподинамію, пригнічення реакції на зовнішні подразники: звук, дотик. Надалі в деяких мишей спостерігали клонічні судоми, які супроводжувалися пінистими виділеннями з рота та закінчувалися смертю. У певних випадках судоми розвивалися разом з порушенням дихання (поодинокі глибокі вдихи, що чергувалися з періодами апное) та ціанозом (синюшність хвоста, ротової порожнини та подушечок ніг). На першу добу дослідів серед тварин, що вижили, були наявні особини з такими ознаками отруєння, як тремор, діарея, сонливість, зниження тону м'язів та порушення координації рухів. На піку вказаних проявів інтоксикації деякі тварини гинули.

У всіх дослідних групах внутрішньошлункового введення НЧМ стан тварин, які вижили на момент закінчення дослідів, був порівняний з таким у контрольній групі, що свідчило про оборотність токсичного впливу субстанції на організм.

Патоморфологічне дослідження, що проводилося на 14 добу після введення НЧМ, не виявило відхилень зовнішнього вигляду органів від норми та відмін-

ностей між контрольною та дослідними групами.

Таким чином, у межах даного дослідження гострої токсичності НЧМ при внутрішньошлунковому застосуванні в мишей встановлені такі біологічні мішені дії досліджуваної субстанції, як центральна нервова, вегетативна нервова, травна, дихальна та серцево-судинна системи.

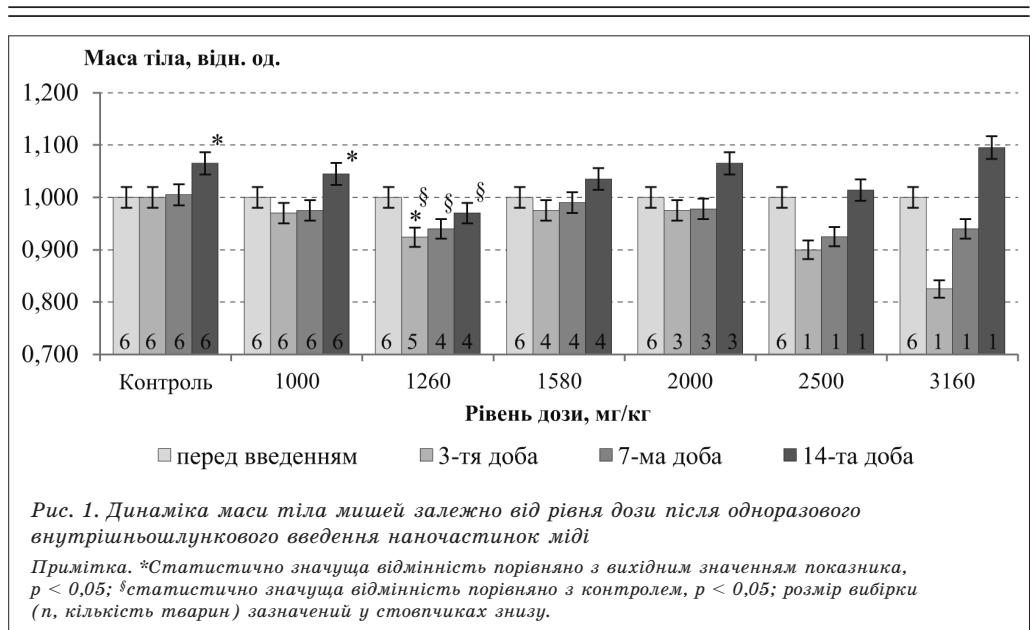
Згідно з даними літератури, НЧМ при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному введенні тваринам здатні викликати патологічні зміни в шлунково-кишковому тракті, печінці, нирках, селезінці та центральній нервовій системі [13–15]. Водночас у наночастинок нуль-валентної міді розміром 20 нм, застосованих у даному експерименті, не виявлено вираженого токсичного впливу на печінку, нирки та селезінку, що вигідно відрізняє НЧМ, які синтезовані за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині, від інших відомих сьогодні нанорозмірних субстанцій даного металу.

Вплив різних рівнів доз НЧМ на динаміку маси тіла мишей наведено на рисунку 1. У групі контролю (введення води для ін'єкцій) протягом експерименту даний показник поступово зростає і на 14 добу перевищував вихідне значення на 6,7 %.

При застосуванні досліджуваної субстанції в дозі 1000 мг/кг маса тіла тварин на 3 та 7 добу мала тенденцію до зменшення, але наприкінці дослідів перевищувала вихідне значення на 4,4 %. Статистично значущих відмінностей порівняно з контролем не виявлено.

У разі введення НЧМ у дозі 1260 мг/кг на 3 добу спостерігали зменшення досліджуваного показника на 8,2 % порівняно з вихідним значенням, але вже на 7 добу даний параметр нормалізувався. Відмічено статистично значущу меншу масу тіла тварин порівняно з контролем – на 8,1 %, 7,6 % та 8,5 % на 3, 7 та 14 добу відповідно.

У разі введення рівнів доз НЧМ 1580 та 2000 мг/кг не спостерігали статистично значущих відмінностей маси тіла тварин протягом усього експерименту, як порівняно з вихідними значеннями, так і порівняно з контролем.



При застосуванні дози 2500 мг/кг у єдиної миші, що вижила, відмічали зменшення маси тіла на 9,3 та 6,9 % порівняно з вихідним значенням показника на 3 та 7 добу відповідно, а також на 9,2 %, 8,0 % та 5,0 % порівняно з контролем на 3, 7 та 14 добу.

У разі введення дози НЧМ 3160 мг/кг у єдиної миші, що вижила, спостерігали зменшення маси тіла на 17,5 та 6,0 % та збільшення на 9,3 % порівняно з вихідним значенням показника на 3, 7 та 14 добу відповідно, а також зменшення досліджуваного параметра на 17,4 та 7,1 % порівняно з контролем на 3 та 7 добу експерименту. Напри-

кінці досліджу відмінностей маси тіла тварини порівняно з контролем у даній групі не відмічено.

Незважаючи на тенденцію або статистично значуще зменшення маси тіла на 3 та 7 добу експерименту в групах введення НЧМ, наприкінці досліджу даний показник у більшості випадків сягав контрольних значень або перевищував останні. Це свідчить про оберненість токсичного впливу НЧМ на організм мишей при одноразовому внутрішньошлунковому введенні.

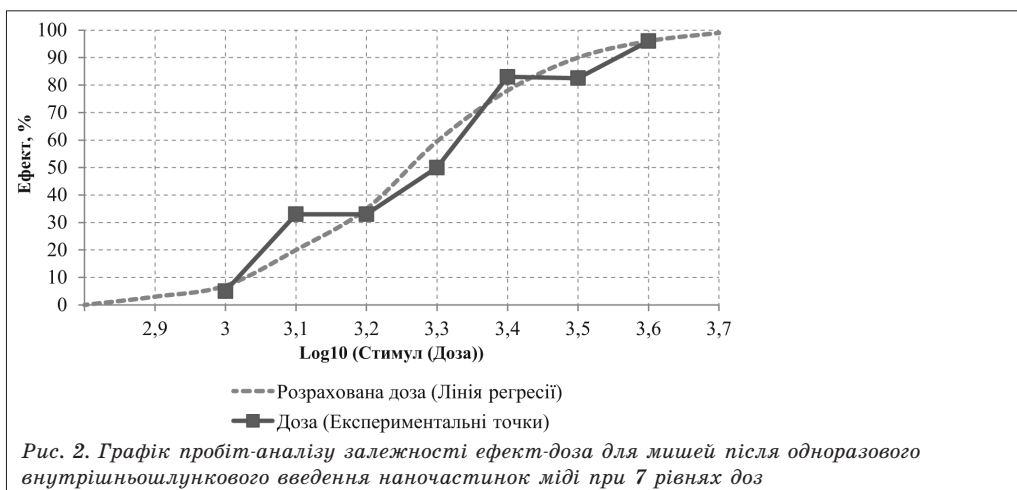
Дані щодо летальності мишей після одноразового внутрішньошлункового введення НЧМ надано у таблиці.

Таблиця

Летальність мишей після одноразового внутрішньошлункового введення наночастинок міді залежно від рівня дози протягом 14 діб спостереження

Рівень дози, мг/кг	Кількість загинлих тварин		Загальна кількість тварин
	абс.	%	
0	0	0	n = 6
1000	0	0	n = 6
1260	2	33,3	n = 6
1580	2	33,3	n = 6
2000	3	50,0	n = 6
2500	5	83,3	n = 6
3160	5	83,3	n = 6
3980	6	100	n = 6

Примітка. Загибель тварин у групах введення доз 1260–2500 мг/кг спостерігали на першу добу експерименту; у разі введення рівнів доз наночастинок міді 3160 мг/кг та 3980 мг/кг більшість випадків смерті відмічали через 1 год після введення, по одній тварині з обох груп загинуло на першу добу досліджу.



На основі наведених у таблиці даних за допомогою комп'ютерної програми BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) компанії AnalystSoft Inc. побудований графік пробіт-аналізу гострої токсичності НЧМ (рис. 2). При цьому дози речовин надані у вигляді логарифмічної шкали, а ефект (смертність) – у відсотках (%).

Розраховане значення LD_{50} зі стандартною помилкою становило $(1839,1 \pm 210,2)$ мг/кг. Отримані результати дозволяють віднести НЧМ до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) за класифікацією К. К. Сидорова [9].

Параметр LD_{50} для різних нанорозмірних сполук міді коливається у великому діапазоні значень через унікальність кожного окремого наноматеріалу. Так, LD_{50} НЧМ розміром 23,5 нм у разі внутрішньошлункового введення мишам лінії ICR становила 413 мг/кг [16]. LD_{100} (доза, що призводить до загибелі 100 % особин) наночастинок CuO, отриманих методом електричного вибуху провідників, при внутрішньоочеревинному введенні мишам лінії BALB/c складала 50–125 мг/кг [17]. У іншому дослідженні наночастинок нуль-валентної міді та CuO різних розмірів (34–103 нм), отримані методом високотемпературної конденсації, вводили внутрішньоочеревинно мишам лінії SHK. Отримані значення LD_{50} становили від 7 до 15 мг/кг [18].

Таким чином, за параметром LD_{50} застосовані в даному дослідженні НЧМ є більш безпечні, а отже вигідно відрізняються від інших нанорозмірних сполук даного металу.

Отримані результати підтверджують доцільність продовження доклінічних досліджень наночастинок міді з метою подальшого впровадження даної субстанції в медичну практику як нового протимікробного засобу для лікування інфекцій, викликаних, зокрема, антибіотикорезистентними штамами мікроорганізмів.

Висновки

1. Сферичні наночастинок нуль-валентної міді розміром 20 нм, отримані за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині, належать до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) за класифікацією К. К. Сидорова при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим лабораторним мишам лінії BALB/c.
2. Біологічними мішенями дії наночастинок міді при внутрішньошлунковому введенні мишам є органи центральної нервової, вегетативної нервової, травної, дихальної і серцево-судинної систем. Не виявлено вираженого токсичного впливу на печінку, нирки та селезінку, що вигідно відрізняє досліджуваний наноматеріал від інших відомих сьогодні нанорозмірних субстанцій даного металу.
3. Оберненість токсичного впливу наночастинок міді на організм мишей при одноразовому внутрішньошлунковому введенні підтверджена відсутністю значного впливу досліджуваної субстанції на динаміку зміни маси тіла дослідних тварин.

1. Llor C. Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem / Llor C., Bjerrum L. // *Ther. Adv. Drug Saf.* – 2014. – V. 5, № 6. – P. 229–241.
2. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, В. О. Маланчук [та ін.]. – Київ : Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
3. Pelgrift R. Y. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance / Pelgrift R. Y., Friedman A. J. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2013. – V. 65, № 13–14. – P. 1803–1815.
4. *In vitro* susceptibility of filamentous fungi to copper nanoparticles assessed by rapid XTT colorimetry and agar dilution method / Ghasemian E., Naghoni A., Tabaraie B. [et al.] // *J. Mycol. Med.* – 2012. – V. 22, № 4. – P. 322–328.
5. Ingle A. P. Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review / Ingle A. P., Duran N., Rai M. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2014. – V. 98, № 3. – P. 1001–1009.
6. Characterization of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications / Ren G., Hu D., Cheng E. W. C. [et al.] // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2009. – V. 33. – P. 587–590.
7. Ефективність дії наночастинок міді до збудників інфекційно-запальних процесів різної локалізації / Резніченко Л. С., Руденко А. В., Сімонов П. В. [та ін.] // *Вісник фармації.* – 2012. – № 3 (71). – С. 75–78.
8. Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів: методичні рекомендації / І. М. Трахтенберг, З. Р. Ульберг, І. С. Чекман [та ін.]. – Київ : Міністерство охорони здоров'я України, 2013. – 108 с.
9. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / Коваленко В. М., Стефанов О. В., Максимов Ю. М., Трахтенберг І. М. // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації: за ред. О. В. Стефанова.* – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – С. 74–97.
10. *Прозоровский В. Б.* Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / *Прозоровский В. Б.* // *Психофармакология и биологическая наркология.* – 2007. – Т. 7, № 3–4. – С. 2090–2120.
11. Waddell W. J. History of dose response / Waddell W. J. // *J. Toxicol. Sci.* – 2010. – V. 35, № 1. – P. 1–8.
12. *Finney D. J.* Probit Analysis / D. J. Finney. – [3-rd ed.]. – Cambridge : Cambridge University Press, 1971. – 333 p.
13. Liao M. Gene expression profiling of nephrotoxicity from copper nanoparticles in rats after repeated oral administration / Liao M., Liu H. // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2012. – V. 34, № 1. – P. 67–80.
14. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: a rapid *in vivo* screening method for nanotoxicity / Lei R., Wu C., Yang B. [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – V. 232, № 2. – P. 292–301.
15. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors / Privalova L. I., Katsnelson B. A., Loginova N. V. [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – V. 15, № 7. – P. 12379–12406.
16. Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo* / Chen Z., Meng H., Xing G. [et al.] // *Toxicology Letters.* – 2006. – V. 163, № 2 – P. 109–120.
17. Биологическая активность нанопорошков металлов, полученных с помощью электрического взрыва проводников / А. П. Ильин, А. В. Коршунов, Л. О. Толбанова [и др.] // *Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины: материалы.* – Новосибирск, 2007. – С. 43–47.
18. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных / Богословская О. А., Сизова Е. А., Полякова В. С. [и др.] // *Вестник Оренбургского государственного университета.* – 2009. – № 2. – С. 124–127.

П. В. Сімонов

Дослідження гострої токсичності наночастинок міді при внутрішньошлунковому введенні мишам

З огляду на проблему антибіотикорезистентності збудників внутрішньоликарняних та позаликарняних інфекцій доцільною є розробка та впровадження в медичну практику лікарських засобів, резистентність мікроорганізмів до яких мало виражена або відсутня. Одним з кандидатів на роль таких медикаментів можуть бути наночастинок міді, які проявляють широкий спектр протимікробної активності.

Мета дослідження – визначення параметрів гострої токсичності наночастинок міді в експерименті на лабораторних мишах при внутрішньошлунковому введенні.

Сферичні наночастинок нуль-валентної міді розміром 20 нм, що отримані за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині, вводили одноразово самкам мишей лінії BALB/c внутрішньошлунково; здійснювали спостереження за станом тварин, особливостями поведінки, положенням тіла та руховою активністю, споживанням корму та води, динамікою маси тіла мишей протягом 14 діб. Проводили пробіт-аналіз результатів за D. J. Finney з застосуванням комп'ютерної програми BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) компанії AnalystSoft Inc., отримували значення середньої смертельної дози.

Встановлено, що наночастинок міді належать до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) за класифікацією К. К. Сидорова в разі одноразового внутрішньошлункового введення мишам лінії

BALB/c. Біологічними мішенями дії є органи центральної нервової, вегетативної нервової, травної, дихальної та серцево-судинної систем. Не виявлено вираженого токсичного впливу на печінку, нирки та селезінку. Оберненість негативної дії наночастинок міді на організм мишей також підтверджено відсутністю значного впливу досліджуваної субстанції на динаміку зміни маси тіла дослідних тварин.

Таким чином, стабільні сферичні наночастинок нуль-валентної міді розміром 20 нм, які синтезовані за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині, позитивно відрізняються від інших відомих сьогодні нанорозмірних субстанцій даного металу за значенням середньої смертельної дози, клінічною картиною інтоксикації та динамікою маси тіла.

Доцільним є продовження досліджень наночастинок міді з метою впровадження в медичну практику як нового протимікробного засобу для лікування інфекцій, викликаних, зокрема, антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів.

Ключові слова: наночастинок металів, мідь, безпека, гостра токсичність, внутрішньошлункове введення, миші

П. В. Симонов

Исследование острой токсичности наночастиц меди при внутрижелудочном введении мышам

Учитывая проблему антибиотикорезистентности возбудителей внутрибольничных и внебольничных инфекций, целесообразной является разработка и внедрение в медицинскую практику лекарственных средств, резистентность микроорганизмов к которым мало выражена или отсутствует. Одним из кандидатов на роль таких медикаментов могут быть наночастицы меди, проявляющие широкий спектр противомикробной активности.

Цель исследования – определение параметров острой токсичности наночастиц меди в эксперименте на лабораторных мышах при внутрижелудочном введении.

Сферические наночастицы нуль-валентной меди размером 20 нм, полученные по оригинальному протоколу методом химической конденсации в водном растворе, вводили самкам мышей линии BALB/c внутрижелудочно, однократно. Осуществляли наблюдение за состоянием животных, особенностями поведения, положением тела и двигательной активностью, потреблением корма и воды; динамикой массы тела мышей в течение 14 суток. Проводили пробит-анализ результатов по D. J. Finney с применением компьютерной программы BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) компании AnalystSoft Inc., получали значения средней смертельной дозы.

Установлено, что наночастицы меди относятся к IV классу токсичности (малотоксичные вещества) по классификации К. К. Сидорова при однократном внутрижелудочном введении мышам линии BALB/c. Биологическими мишенями действия являются органы центральной нервной, вегетативной нервной, пищеварительной, дыхательной и сердечно-сосудистой систем. Не обнаружено выраженного токсического воздействия на печень, почки и селезенку. Обратимость отрицательного воздействия наночастиц меди на организм мышей также подтверждена отсутствием значительного влияния исследуемой субстанции на динамику массы тела подопытных животных.

Таким образом, стабильные сферические наночастицы нуль-валентной меди размером 20 нм, синтезированные по оригинальному протоколу методом химической конденсации в водном растворе позитивно отличаются от других известных на сегодняшний день наноразмерных субстанций данного металла по значению средней смертельной дозы, клинической картине интоксикации и динамике массы тела.

Целесообразным является продолжение исследований наночастиц меди с целью внедрения в медицинскую практику в качестве нового противомикробного средства для лечения инфекций, вызванных, в частности, антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов.

Ключевые слова: наночастицы металлов, медь, безопасность, острая токсичность, внутрижелудочное введение, мыши

P. V. Simonov

Acute toxicity testing of the copper nanoparticles under oral administration to mice

According to the problem of an antimicrobial resistance of causative agents of hospital-acquired and community-acquired infections, it is appropriate to develop and introduce into medical practice such medications, to which antimicrobial resistance is low or absent. The copper nanoparticles, which have broad-spectrum antimicrobial properties, may become one of such drugs.

The aim of the study – determination of the copper nanoparticles' acute toxicity parameters in experiment after oral administration to laboratory mice.

There were used a single oral administration of 20 nm spherical zerovalent copper nanoparticles, obtained by original protocol of chemical condensation in aqueous solution method, to BALB/c female mice. The monitoring of animals' condition, peculiarities of behavior, a posture and a movement-associated activity, a consumption of food and water; dynamics of body mass were performed. A probit-

analysis of results was carried out by D. J. Finney with the use of the computer program BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) by AnalystSoft Inc. with an acquisition of median lethal dose value.

The copper nanoparticles belonged to the K. K. Sidorov classification 4th toxicity class (slightly toxic), when administered as a single oral dose to BALB/c mice. The organs of central nervous, autonomous nervous, gastro-intestinal, respiratory, and cardio-vascular systems were the biological targets of action. Pronounced toxic effects on liver, kidneys, and spleen weren't observed. A reversibility of the copper nanoparticles' negative influence on mice was also confirmed by an absence of significant influence of the studied substance on a dynamics of animals' body mass.

Thus stable spherical 20 nm zerovalent copper nanoparticles, obtained by original protocol of chemical condensation in aqueous solution method, differ positively from other nanosized substances of this metal known nowadays in a median lethal dose value, clinical aspects of an intoxication and a dynamics of animals body mass.

It seems advisable to continue preclinical studies of the copper nanoparticles in order to introduce this substance into medical practice as the new antimicrobial medication for a treatment of infections, particularly those caused by antimicrobial resistant strains.

Key words (MeSH Terms): metal nanoparticles, copper, safety, acute toxicity, oral administration, mice

Надійшла: 25.05.2015 р.

Контактна особа: Сімонов Павло Вадимович, аспірант, кафедра фармакології,
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ. Тел.: + 38 0 93 917 47 71.
Електронна пошта: simonovpavlo@ukr.net

О. В. Товчига¹, Т. В. Горбач², С. Ю. Штриголь¹, С. І. Степанова¹

Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) на показники ліпідного обміну в щурів на тлі одноразового введення етанолу

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²Харківський національний медичний університет

Ключові слова: яглиця звичайна (*Aegopodium podagraria* L.), етанол, печінка, метаболізм ліпідів, холестерол, тригліцериди

Нині зростає інтерес до рослинних препаратів із широким спектром метаболічних ефектів, здатних протидіяти цитотоксичним впливам. Серед екзогенних токсичних сполук значне місце належить етанолу, зловживання яким призводить до тяжких медичних і соціальних наслідків. В аспекті зменшення токсичних ефектів спирту етилового (спрямованих на більшість органів та систем, у тому числі нервову, серцево-судинну, шлунково-кишковий тракт, видільну, репродуктивну та ін.) привертають увагу препарати рослинного походження. Перспективи використання рослинних засобів широко обговорюються в зв'язку з обмеженістю фармацевтичного ринку антиалкогольних препаратів і недостатньою ефективністю та доступністю нефармакологічних методів лікування алкоголізму. Доцільність пошуку антиалкогольних засобів серед рослинних БАР обумовлена їхньою політропною дією, завдяки чому можливий не лише вплив на нейрохімічні механізми розвитку залежності, але й корекція порушень метаболізму та уражень органів-мішеней, перш за все печінки, серцево-судинної та центральної нервової систем [1]. У той самий час бракує фітопрепаратів з суворо доведеною ефективністю та безпечністю, отже є актуальним їхнє фармакологічне вивчення.

Нашою метою є верифікація фармакологічних властивостей препаратів надземної частини яглиці звичайної

(ЯЗ, *Aegopodium podagraria* L.) стосовно метаболічних порушень, спричинених етанолом. Доведено гепатопротекторну та нефропротекторну дії цих препаратів, їхній сприятливий вплив на обмін глюкози, у тому числі в разі алоксанового діабету, а також на метаболізм сечової кислоти [2–4]. Встановлено здатність екстракту зменшувати тривалість етанолового наркозу в мишей [5].

Важливими діючими речовинами ЯЗ є гідроксикоричні кислоти, флавоноїди (кверцетин, кемпферол та їхні похідні), компоненти білково-полісахаридного комплексу [3]. У цих речовин встановлено захисну дію від токсичного впливу етанолу [6–9], гіполіпідемічну активність [9–14].

Виходячи з вищенаведеного, можна припустити сприятливі метаболічні ефекти препаратів ЯЗ за впливу етанолу, а особливо на ліпідний обмін. Ці аспекти фармакодинаміки дотепер не вивчали. У той самий час нормалізація обміну ліпідів може сприятливо доповнити спектр фармакологічних ефектів препаратів ЯЗ, перспективних для застосування при «хворобах цивілізації» [2–5], при яких корекція обміну ліпідів патогенетично важлива [15]. З іншого боку, модель одноразового введення етанолу використовують не лише для пошуку цитопротекторів, але й для дослідження потенційних гіполіпідемічних засобів [15].

Мета дослідження – визначення впливу препаратів ЯЗ на показники обміну ліпідів на тлі одноразового введення етанолу.

Матеріали та методи. Сухий екстракт та настойку одержано з надземної частини ЯЗ за стандартною методикою згідно з Державною фармакопеею

України, стандартизовано за вмістом гідроксикоричних кислот, що охарактеризовано раніше [2, 3].

Досліди проведено на рандомбредних щурах-самцях масою 220–260 г з дотриманням правил Директиви Ради ЄС з питань захисту тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей, за схвалення комісії НФаУ з біоетики.

Використано модель одноразового введення етанолу, рекомендовану для дослідження впливу препаратів на ліпідний обмін [15].

Щурів було поділено на 7 груп: 1) інтактний контроль (ІК, $n = 7$); 2) модельна патологія (уведення етанолу, МП, $n = 8$); 3) введення етанолу + екстракт ЯЗ у дозі 100 мг/кг ($n = 6$); 4) введення етанолу + екстракт ЯЗ у дозі 1 г/кг ($n = 7$); 5) введення етанолу + настойка ЯЗ у дозі 1 мл/кг ($n = 6$); 6) введення етанолу + настойка ЯЗ у дозі 5 мл/кг ($n = 6$); 7) введення етанолу + фенофібрат («Трайкор» виробництва Laboratoires Fournier Solvay Pharmaceuticals Group, Франція) як рекомендований препарат порівняння з переважним впливом на тригліцеридемію [15] у дозі 100 мг/кг, яка є ефективною в дослідках на щурах [16].

Використано дози екстракту та настойки ЯЗ, які були ефективними в попередніх дослідках у разі порушення обміну вуглеводів та сечової кислоти, патології печінки та нирок [2–5].

Настойку, позбавлену спирту, водний розчин екстракту, суспензію фенофібрату (виготовлення *ex tempore*, об'єм рідини в усіх випадках однаковий) вводили щоденно внутрішньошлунково протягом 7 днів; щури груп ІК та МП отримували відповідну кількість питної води.

Через 40 хв після введення останньої дози досліджуваних препаратів щурам внутрішньошлунково вводили етанол у дозі 9 г/кг (30 % водний розчин). Тваринам групи ІК вводили еквівалентну кількість питної води. Через 8 год [15] тварин виводили з досліду шляхом декапітації під барбітуровим наркозом з метою забору крові та печінки, негайним центрифугуванням одержували плазму крові. Як антикоагулянт вико-

ристано гепарин *in vitro* (допустимість використання гепарину обумовлена тим, що його активуючий вплив на ліпопротеїніпазу проявляється переважно *in vivo*, а в плазмі крові щурів цей фермент знаходиться в неактивній мономерній формі [17]; гепарин до всіх проб додавали в однаковому мінімальному співвідношенні згідно з [18]).

У плазмі крові ферментативними методами визначали вміст тригліцеридів (ТГ) та загального холестеролу (ХС, стандартні набори НВП «Філісіт-Діагностика», Україна), ХС ЛПВЩ після осадження ЛПНЩ + ЛПДНЩ 0,5 М розчином магнію хлориду в 4 % розчині фосфорно-вольфрамової кислоти [18]. Розраховували коефіцієнт атерогенності (К) за формулою:

$$K = (X_{C_{\text{заг}}} - X_{C_{\text{ЛПВЩ}}}) / X_{C_{\text{ЛПВЩ}}},$$

де $X_{C_{\text{заг}}}$ – загальний вміст холестеролу в плазмі крові, ммоль/л,

$X_{C_{\text{ЛПВЩ}}}$ – вміст холестеролу в плазмі крові після осадження ЛПНЩ + ЛПДНЩ, ммоль/л.

Розраховували також вміст $X_{C_{\text{ЛПДНЩ}}}$ за співвідношенням [18]:

$$X_{C_{\text{ЛПДНЩ}}} = TГ / 2,2;$$

де $X_{C_{\text{ЛПДНЩ}}}$ – вміст холестеролу в ЛПДНЩ, ммоль/л,

ТГ – вміст тригліцеридів у плазмі крові, ммоль/л.

Вміст ХС ЛПНЩ визначали за різницею між загальним ХС та сумою ХС ЛПВЩ та ХС ЛПДНЩ.

На холоду вилучали печінку, перфузували охолодженим середовищем із вмістом 0,25 М сахарози в 0,025 М трис-НСІ (рН 7,5), гомогенізували в гомогенізаторі Поттера (1 г тканини в 2 мл середовища). З гомогенату печінки екстрагували ліпіди за методом Bligh and Dyer, як зазначено в [19]. Ліпіди фракціонували методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol, котрі проявляли в парах йоду, плями відповідних фракцій вилучали й піддавали кількісному аналізу. Вміст ФЛ визначали за фосфором, ТГ – за реакцією з солянокислим фенілгідразином, ХС – за реакцією з хлорним залізом [19].

Дані обробляли, розраховуючи медіани, 25 % та 75 % процентілі, також

надано традиційно вживані середні арифметичні та їхні стандартні помилки ($M \pm m$). Порівняння центральних тенденцій незалежних виборок здійснювали за критерієм W Вілкоксона. Зв'язок між окремими показниками оцінювали за коефіцієнтом кореляції Спірмена r .

Результати та їх обговорення. Уведення етанолу спричиняло суттєві зміни в ліпідному складі печінки: різко (у 3,4 разу, $p < 0,01$) зростав уміст ТГ порівняно з ІК, збільшувався рівень ХС та зменшувався – ФЛ (табл. 1), що відповідає даним літератури [20, 21].

Відомо, що метаболічні наслідки впливу етанолу включають дисбаланс у окисно-відновних процесах зі зростанням умісту НАДН₂ і, у подальшому, НАДФН₂, накопичення ацетату в надлишковій кількості, що в поєднанні призводить до посиленого утворення жирних кислот та ХС [20]. За впливу

етанолу в електронних ланцюгах мітохондрій переважно використовуються відновлювальні еквіваленти, отримані при окисненні етанолу, відбувається пригнічення β -окиснення жирних кислот, які в нормі є основним енергетичним джерелом у гепатоцитах [20, 22]. Порушується секреція ТГ у складі ЛПДНЩ внаслідок селективного інгібування початкових етапів цього процесу в мікосомах та комплексі Гольджі при залученні процесів ПОЛ [21]. Пригнічується секреція ФЛ та вільного ХС у складі жовчі [20]. Таким чином, на тлі етанолу посилене утворення ліпідів печінкою не супроводжується їхньою адекватною утилізацією та секрецією. Як видно з даних таблиці 2, у щурів групи МП достовірно знижувалася концентрація ТГ та ХС ЛПДНЩ у плазмі крові ($p < 0,05$), відповідно зменшувався коефіцієнт атерогенності,

Таблиця 1

Показники ліпідного обміну в печінці щурів за умов одноразового введення етанолу на тлі препаратів яглиці звичайної та фенофібрату,

$M \pm m; Q_{50} (Q_{25}-Q_{75})$

Група тварин	Холестерол, мг/г	Тригліцериди, мг/г	Фосфоліпіди, мг/г
Інтактний контроль, $n = 7$	$3,74 \pm 0,21$ 3,92 (3,37–4,06)	$18,20 \pm 0,20$ 18,20 (17,9–18,4)	$25,20 \pm 0,56$ 25,3 (25,1–26,0)
Етанол (модельна патологія), $n = 8$	$4,93 \pm 0,11^{***}$ 4,93 (4,75–5,19)	$62,40 \pm 0,39^{***}$ 62,5 (61,8–63,2)	$12,60 \pm 0,33^{***}$ 12,7 (11,9–13,3)
Етанол + екстракт яглиці звичайної, 100 мг/кг, $n = 6$	$3,80 \pm 0,28^{##\wedge}$ 3,90 (3,29–4,11)	$44,50 \pm 0,58^{***\#\#\wedge\wedge}$ 44,7 (44,0–45,4)	$19,90 \pm 0,69^{***\#\#}$ 19,9 (18,9–21,0)
Етанол+ екстракт яглиці звичайної, 1 г/кг, $n = 7$	$4,39 \pm 0,23$ 4,37 (3,89–4,85)	$44,40 \pm 0,78^{***\#\#\wedge\wedge}$ 44,0 (43,2–46,2)	$19,60 \pm 0,62^{***\#\#}$ 19,2 (18,3–20,9)
Етанол + настойка яглиці звичайної, 1 мл/кг, $n = 6$	$5,67 \pm 0,21^{***\#\wedge}$ 5,86 (5,55–5,97)	$60,60 \pm 0,60^{***\#\wedge\wedge}$ 60,7 (60,0–61,1)	$15,00 \pm 0,29^{***\#\#\wedge\wedge}$ 14,9 (14,8–15,3)
Етанол+ настойка яглиці звичайної, 5 мл/кг, $n = 5$	$4,19 \pm 0,21^{##\#\wedge\$}$ 4,25 (3,77–4,44)	$52,60 \pm 0,55^{***\#\#\#\$}$ 52,4 (51,9–53,2)	$21,80 \pm 0,79^{***\#\#\wedge\$}$ 21,3 (20,8–23,0)
Етанол + фенофібрат, 100 мг/кг, $n = 6$	$4,88 \pm 0,20^{***}$ 4,93 (4,81–5,17)	$53,90 \pm 1,02^{***\#\#}$ 54,0 (53,0–55,1)	$19,70 \pm 0,73^{***\#\#}$ 19,8 (19,0–20,3)

Примітка. Тут і у табл. 2: статистично значущі відмінності: з показниками інтактного контролю – * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,02$); *** ($p < 0,01$); з показниками групи модельної патології – # ($p < 0,05$); ## ($p < 0,02$); ### ($p < 0,01$); з показниками тварин, що одержували фенофібрат – ^ ($p < 0,05$); ^^ ($p < 0,02$); ^^ ($p < 0,01$); з показниками тварин, що одержували настойку в дозі 100 мг/кг – \$ ($p < 0,01$).

а вміст ХС ЛПВЩ дещо зростав. При цьому в групі МП зникав кореляційний зв'язок між ХС печінки та ХС плазми крові [загальним та ХС ЛПВЩ, $\rho = -0,38$ ($p > 0,05$) та $\rho = -0,03$ ($p > 0,05$) відповідно, тоді як у групі ІК $\rho = +0,88$ ($p < 0,05$) та $\rho = +0,79$ ($p < 0,05$)], посилювався зв'язок між ХС печінки та ХС ЛПНЩ $\rho = +0,50$ ($p > 0,05$) проти $+0,09$ ($p > 0,05$) у групі ІК. Крім того, лише в групі МП спостерігали додатну кореляцію між ТГ печінки та ЛПВЩ плазми крові ($\rho = +0,90$ ($p < 0,05$), тоді як у групі ІК цей коефіцієнт дорівнював $+0,61$ ($p > 0,05$), а в усіх інших групах коефіцієнти кореляції були від'ємними й не сягали достовірного рівня. Ці дані узгоджуються з результатами, отриманими [22] *in vitro*: одноразовий вплив етанолу у високій концентрації на гепатоцити порушує секрецію ліпопротеїнів, багатих на ТГ та асоційованих з Апо-В, отже, порушується секреція ЛПДНЩ зі зростанням рівня ЛПВЩ. Зміни такої спрямованості можуть реєструватися й у людини: за помірного споживання етанолу або у пацієнтів із алкоголізмом (хоча в разі збільшення дози етанолу відбувається атерогенний зсув ліпідних фракцій крові) [22].

У тварин групи МП суттєво (на 50 %, $p < 0,01$) знижувався вміст ФЛ у печінці. Аналогічні дані отримані в роботі [23] за умов перфузії печінки: у разі доступності жирних кислот на тлі етанолу синтез ТГ переважає над синтезом ФЛ. У групі ІК спостерігали сильний кореляційний зв'язок між усіма дослідженими показниками ліпідного складу печінки (так, коефіцієнти кореляції між ТГ печінки та вмістом у ній ХС та ФЛ становлять $+0,86$ ($p < 0,05$) та $+0,79$ ($p < 0,05$) відповідно), що може вказувати на узгодженість процесів метаболізму ліпідів. Уведення етанолу усувало ці зв'язки.

Уміст загального ХС і загальних ліпідів у плазмі крові щурів, які одержували етанол, суттєво не змінювався (табл. 2). Згідно з даними літератури, спрямованість зсувів ліпідного складу крові на тлі етанолу може бути різною, оскільки його високі дози, з одного боку, призводять до стресу й подальшого, опосередкованого катехоламінами, ліполізу, а, з іншого

боку, пригнічують вивільнення жирних кислот унаслідок зростання рівня ацетату, при цьому в щурів за одноразового уведення етанолу виражена гіперліпемія не розвивається [20], що узгоджується з отриманими результатами.

Найактивнішу захисну дію щодо ліпідного складу печінки виявив екстракт ЯЗ, який в обох дозах переважав фенофібрат за впливом на вміст ТГ у печінці ($p < 0,01$) та не поступався препаратом порівняння за здатністю збільшувати рівень ФЛ та зменшувати ХС (у дозі 100 мг/кг, табл. 1). У дозі 1 г/кг вплив екстракту на вміст ХС у печінці не виявлено. Уміст ліпідних фракцій у крові на тлі обох доз екстракту вірогідно не відрізнявся від показників ІК, відмічено лише тенденцію до зниження рівня ТГ та ХС ЛПДНЩ на тлі фітопрепарату в дозі 1 г/кг.

У літературі є дані щодо важливої ролі ліпопероксидації в порушенні секреції ліпідів печінкою на тлі етанолу [21]. Антиоксидантний ефект не є провідним у реалізації активності препаратів ЯЗ, але він бере участь у їхній органопротекторній дії (на моделях ураження нирок та печінки) [2, 3] і можна припустити його певну роль і за умов впливу етанолу (як зазначено вище, процеси ПОЛ патогенетично важливі на початкових етапах пригнічення синтезу ліпопротеїнів [21]). Більш того, даний ефект є залежним від дози/концентрації, загальновідома інверсія антиоксидантних властивостей у прооксидантні. Можливий прооксидантний ефект може частково пояснювати відсутність впливу екстракту в більшій дозі на вміст ХС у печінці. Втім це припущення потребує подальших досліджень, тимчасом як на тлі настойки спостерігали протилежну спрямованість впливу на вміст ХС у печінці від дози з достовірними ($p < 0,05$) відмінностями показника на тлі доз 1 та 5 мл/кг (табл. 1). Уміст ТГ у печінці тварин, що одержували фітопрепарат у меншій дозі, був дещо нижчий за показник групи МП, а вміст ФЛ незначно збільшувався. Однак у дозі 5 мл/кг настойка вірогідно переважала фенофібрат за сприятливим впливом на ХС та ФЛ печінки, й не поступалася

Показники ліпідного обміну в плазмі крові щурів за умов одноразового введення етанолу, на тлі препаратів
яглиці звичайної та фенофібрату, $M \pm m$; Q_{50} ($Q_{25}-Q_{75}$)

Показник	Інтактний контроль	Етанол (модельна патологія)	Етанол + екстракт яглиці звичайної, 100 мг/кг	Етанол + екстракт яглиці звичайної, 1 г/кг	Етанол + настойка яглиці звичайної, 1 мл/кг	Етанол + настойка яглиці звичайної, 5 мл/кг	Етанол + фенофібрат, 100 мг/кг
Тригліцериди, ммоль/л	$0,52 \pm 0,05$ 0,49 (0,45–0,57)	$0,40 \pm 0,03^*$ 0,40 (0,35–0,44)	$0,51 \pm 0,10$ 0,50 (0,35–0,58)	$0,46 \pm 0,10$ 0,41 (0,29–0,54)	$0,48 \pm 0,06$ 0,52 (0,47–0,55)	$0,46 \pm 0,02$ 0,46 (0,42–0,49)	$0,45 \pm 0,01$ 0,45 (0,45–0,46)
Загальний холестерол, ммоль/л	$1,76 \pm 0,20$ 1,79 (1,33–2,00)	$1,63 \pm 0,23$ 1,47 (1,10–2,07)	$1,84 \pm 0,23^{**}$ 1,86 (1,40–2,32)	$1,45 \pm 0,21$ 1,47 (1,13–1,73)	$1,28 \pm 0,07^*$ 1,24 (1,18–1,33)	$1,36 \pm 0,13^*$ 1,31 (1,09–1,56)	$0,98 \pm 0,08^{***}$ 0,97 (0,86–1,08)
Холестерол ЛПВЩ, ммоль/л	$1,22 \pm 0,20$ 1,09 (0,82–1,63)	$1,37 \pm 0,22$ 1,44 (1,00–1,64)	$1,33 \pm 0,22^{***}$ 1,44 (0,93–1,71)	$1,12 \pm 0,16^{***}$ 1,16 (0,86–1,46)	$0,76 \pm 0,04^{**}$ 0,74 (0,71–0,79)	$0,85 \pm 0,14^{**}$ 0,75 (0,63–1,00)	$0,50 \pm 0,02^{****}$ 0,50 (0,48–0,51)
Коефіцієнт атерогенності	$0,53 \pm 0,13$ 0,35 (0,23–0,88)	$0,36 \pm 0,07$ 0,38 (0,24–0,39)	$0,45 \pm 0,09^*$ 0,35 (0,29–0,58)	$0,48 \pm 0,15^*$ 0,44 (0,21–0,65)	$0,70 \pm 0,13^*$ 0,62 (0,51–0,81)	$0,70 \pm 0,14^*$ 0,63 (0,48–0,98)	$0,97 \pm 0,19^{**}$ 0,82 (0,75–1,04)
Холестерол ЛПНЩ, ммоль/л	$0,30 \pm 0,09$ 0,28 (0,13–0,41)	$0,27 \pm 0,07$ 0,25 (0,21–0,34)	$0,30 \pm 0,04$ 0,29 (0,26–0,39)	$0,33 \pm 0,11$ 0,28 (0,23–0,36)	$0,31 \pm 0,08$ 0,27 (0,20–0,37)	$0,32 \pm 0,05$ 0,33 (0,23–0,37)	$0,30 \pm 0,08$ 0,26 (0,19–0,36)
Холестерол ЛПДНЩ, ммоль/л	$0,21 \pm 0,02$ 0,19 (0,18–0,23)	$0,16 \pm 0,01^*$ 0,16 (0,14–0,18)	$0,20 \pm 0,04$ 0,20 (0,14–0,23)	$0,18 \pm 0,04$ 0,16 (0,12–0,22)	$0,19 \pm 0,02$ 0,21 (0,19–0,22)	$0,18 \pm 0,01$ 0,18 (0,17–0,20)	$0,18 \pm 0,004$ 0,18 (0,18–0,19)
Загальні ліпіди, г/л	$1,85 \pm 0,16$ 1,87 (1,59–2,18)	$1,80 \pm 0,17$ 1,80 (1,54–1,98)	$1,75 \pm 0,12^{**}$ 1,79 (1,60–1,99)	$1,63 \pm 0,19$ 1,71 (1,27–1,99)	$1,41 \pm 0,16$ 1,44 (1,11–1,51)	$1,45 \pm 0,10$ 1,51 (1,35–1,59)	$1,23 \pm 0,08^{***}$ 1,29 (1,07–1,31)

препарату порівняння за здатністю до зменшення рівня печінкових ТГ. У даній групі, на відміну від усіх інших, коефіцієнти кореляції між ХС печінки та ХС плазми крові (загальним та ХС ЛПВЩ, + 0,50 та + 0,60 відповідно; $p > 0,05$), а також між ТГ та ХС, ТГ та ФЛ печінки (+ 0,50 та + 0,80 відповідно; $p > 0,05$), наближалися до таких у групі ІК (значення наведено вище), хоча й не сягали достовірного рівня. Зв'язок між ТГ та ХС печінки також відновлювався на тлі екстракту ЯЗ у дозі 1 г/кг ($p = + 0,64$; $p > 0,05$).

Щодо препарату порівняння, то він нормалізував уміст ТГ та ФЛ у печінці (табл. 1). Це узгоджується з механізмом його дії – індукцією ферментів β -окиснення жирних кислот у мітохондріях через вплив на α -рецептор, що активується пероксисомальним проліфератором, а також із даними [24] щодо зменшення вмісту ТГ у печінці щурів із хронічною алкоголізацією на тлі дози 30 мг/кг. Фенофібрат змінював спрямованість зв'язку між ТГ та ФЛ печінки ($p = - 0,77$ ($p > 0,05$) проти $p = + 0,35$ ($p > 0,05$) у групі МП та $p = + 0,79$ ($p < 0,05$) у групі ІК). Він не впливав на рівень ХС печінки (табл. 1) та, на відміну від екстракту ЯЗ, суттєво зменшував загальний рівень ХС у плазмі крові за рахунок ХС ЛПВЩ зі змінами коефіцієнта атерогенності (табл. 2). Це відповідає такій ланці механізму дії фенофібрату, як активація скавенджер-рецепторів, які забезпечують селективне захоплення ефірів ХС із ЛПВЩ [24]. Втім, хоча коефіцієнт кореляції між ТГ печінки та плазми є від'ємним ($p = - 0,90$ ($p < 0,05$) проти $p = - 0,20$ ($p > 0,05$) у групі МП), кореляційного зв'язку між ХС печінки та ХС ЛПНЩ плазми не спостерігали.

Дані щодо впливу фенофібрату на процеси стеатозу в печінці суперечливі, поряд із захисною дією [24] вказують на індукцію стеатозу фенофібратом у мишей C57BL/6J [25].

Достовірне зменшення рівня ХС ЛПВЩ встановлено на тлі настоянки ЯЗ в обох дозах (табл. 2), на тлі меншої дози також спостерігали від'ємний кореляційний зв'язок між ТГ печінки

та плазми ($p = - 0,90$; $p < 0,05$), подібний такому в групі тварин, що одержували фенофібрат, що розглянуто вище. Втім настоянка в дозі 5 мл/кг, на відміну від препарату порівняння, зменшувала вміст ХС у печінці та перевіряла препарат порівняння за впливом на ФЛ печінки (табл. 1).

Отже, за умов одноразового введення етанолу екстракт ЯЗ виявляє захисну дію (у дозах 100 мг/кг та 1 г/кг). Дещо менш виражена захисна дія притаманна настоянці ЯЗ у дозі 5 мл/кг. Постає питання щодо діючих речовин ЯЗ та біофармацетичних особливостей дії її препаратів. Встановлено [3], що в реалізації органопротекторних та нормоурікемічних властивостей препаратів ЯЗ важлива роль належить гідроксикоричним кислотам.

Показано, що кавова кислота за хронічного введення етанолу щурам нормалізує функцію та структуру печінки, а також показники ліпопероксидації [6]. Ферулова кислота зменшує ферментемію та показники ліпопероксидації в печінці за хронічної високодозової алкоголізації мишей [7]. У спонтанно гіпертензивних щурів ферулова кислота зменшує вміст ХС та ТГ у плазмі крові шляхом впливу на експресію мРНК генів, що контролюють ліпідний метаболізм у печінці. Ці дані привертають особливу увагу, оскільки отримані за одноразового внутрішньошлункового введення ферулової кислоти у невисокій дозі 9,5 мг/кг [10]. Ферулова кислота, яка відома як гепатопротектор, за алкоголізації щурів не лише зменшує ферментемію, але й протидіє процесам фіброзу в гепатоцитах. Ферулова кислота не є провідним компонентом препаратів ЯЗ, однак вона є важливим метаболітом присутньої в ЯЗ кавової кислоти [26], тому може долучатися до захисної дії препаратів ЯЗ. Виходячи з вмісту гідроксикоричних кислот в екстракті 5,00 та 0,36 % – у настоянці [2], із використаними на даній моделі дозами екстракту й настоянки до організму щурів надходить відповідно 5 та 50 мг/кг; 0,36 та 1,80 мг/кг даних сполук. Щодо екстракту, то ці дози є співставленими з зазначеною вище ефективною дозою ферулової кислоти 9,5 мг/кг [10], що

вказує на високу ймовірність участі гідроксикоричних кислот у реалізації захисної дії екстракту на тлі етанолу.

Одними з найдослідженіших в аспекті гіполіпідемічної та органопротекторної дії груп БАР (наявних у препаратах ЯЗ) є флавоноїди. Так, кверцетин *in vitro* протидіє ураженню гепатоцитів етанолом не лише за рахунок прямої антирадикальної дії, але й внаслідок стабілізації внутрішньоклітинного пулу вільних іонів заліза. У досить високій дозі (100 мг/кг) кверцетин чинить гіполіпідемічну дію та зменшує біохімічні й структурні зміни гепатоцитів за хронічної алкоголізації щурів (відновлює мембранний потенціал та нормалізує проникність мітохондріальних мембран, показники прооксидантно-антиоксидантного статусу мітохондрій як основної мішені впливу вільних радикалів за внутрішньоклітинної активації ПОЛ) [11]. *In vitro* кверцетин пригнічує синтез жирних кислот *de novo* ($IC_{50} = 25$ мкМ), інгібує ацетил-КоА-карбоксилазу та діацилгліцерол ацилтрансферазу, зменшує внутрішньоклітинний уміст ТГ та включення ацетату до ТГ ЛПДНЩ, але не впливає на синтез ХС [12]. На відміну від рутину та ферулової кислоти, кверцетин зменшує експресію та активність ферментів, що забезпечують синтез жирних кислот, *in vivo* та знижує рівень ТГ, ХС та ФЛ у сироватці крові мишей (однак ефект верифіковано за включення 1 % флавоноїду до складу раціону, що не є співставимим з його надходженням з препаратами ЯЗ у використаних дозах) [13].

Важливими флавоноїдами ЯЗ є кемпферол та його глікозид трифолін [3]. Кемпферол здатний дозалежно зменшувати вміст ТГ та ХС у печінці, а також знижувати накопичення вісцерального жиру та атерогенні зміни ліпідного складу крові (за умов гіперкалорійного раціону). За характером та механізмом дії він співставимий із фенофібратом: відновлює діяльність α -рецепторів, що активуються пероксисомальним проліфератором, з наступним відновленням експресії ацил-КоА-оксидази та 4A1 ізоформи цитохрому P450, а також зменшує до норми експресію білка SREBP, який активується за впливу етанолу та долучається до посилення ліпогенезу з наступним стеатозом печінки [14]. Однак дія кемпферолу виявляється в дозі 300 мг/кг, що не є порівнюваною з його надходженням у складі препаратів ЯЗ (органопротекторну дію його глікозиду трифоліну доведено в дозі 50 мг/кг, співставимій з дозою екстракту ЯЗ 1 г/кг [3]).

Зважаючи на вищевикладене, ймовірно, що флавоноїдам належить певна участь у захисній дії препаратів ЯЗ за впливу етанолу, однак ця участь не є вирішальною. Поряд із фенольними сполуками (які привертають найбільшу увагу і вивчені найґрунтовніше) активність екстракту ЯЗ обумовлюють компоненти білково-полісахаридного комплексу [3]. Інтерес до даних сполук останнім часом зростає (хоча дискусійним залишається питання щодо фармакокінетики та реалізації дії), спектр їхньої фармакологічної активності доповнено захисною дією за одноразового введення етанолу (полісахариди плодоніжок *Hovenia dulcis Thunb.*, *Rhamnaceae*, що чинять гепатопротекторний та антиоксидантний ефект [8]), а також за хронічної алкоголізації (полісахариди *Aloe vera (L.) Burm.f.*, *Xanthorrhoeaceae*, які зменшують рівень ТГ печінки та плазми крові, нормалізують ферментемію та гістоструктуру печінки, підвищують експресію генів АМФ-активованої протеїнкінази α_2 та α -рецептора, що активується пероксисомальним проліфератором, асоційованих із ліполізмом, але не впливали на експресію генів, що пов'язані з ліпогенезом [9]). Тому можна припустити участь компонентів білково-полісахаридного комплексу в реалізації захисного ефекту екстракту ЯЗ на тлі етанолу.

У механізмі захисної дії при одноразовому впливі значних доз етанолу, поряд із впливом на активність ферментів ліпідного обміну, важлива роль може належати стреспротекторному ефекту. Відомо, що поряд зі змінами, спричиненими окисненням етанолу, накопичення ТГ у печінці за даної моделі пов'язують із постстресорними реакціями з вивільненням катехоламінів, які спричиняють

мобілізацію жирних кислот із ліпідних депо та накопичення ТГ у печінці (зменшення симпатичної активності дозволяє попередити зростання вмісту ліпідів у печінці на тлі етанолу) [20]. Оскільки серед БАР ЯЗ присутні сполуки з анксиолітичною та, потенційно, стреспротекторною активністю, можливо її виявлення й на даній моделі. Втім це потребує подальших досліджень.

Отже, за умов одноразового введення етанолу екстракт яглиці звичайної в дозах 100 мг/кг та 1 г/кг та настойка яглиці звичайної в дозі 5 мл/кг нормалізують обмін ліпідів. З одного боку, ці результати надають подальше обґрунтування антиалкогольної дії екстракту, з іншого боку, доводять здатність екстракту та настойки до нормалізації ліпідного обміну, що сприятливо поєднується з їхньою органопротекторною та гіпоглікемічною, нормоурикемічною активністю і свідчить про доцільність подальших досліджень впливу препаратів яглиці на ліпідний обмін. Вірогідно, що в реалізації цього впливу провідна роль належить гідроксикоричним кислотам та компонентам білково-полісахаридного комплексу.

Висновки

1. За умов одноразового внутрішньошлункового введення етанолу щурам (9 г/кг) екстракт яглиці звичайної в дозах 100 мг/кг та 1 г/кг внутрішньошлунково та настойка яглиці

звичайної в дозі 5 мл/кг внутрішньошлунково за профілактичного режиму введення зменшують вміст тригліцеридів і холестеролу та підвищують концентрацію фосфоліпідів у печінці, за виразністю дії дані препарати переважають фенофібрат у дозі 100 мг/кг або не поступаються йому. Настойка в дозі 1 мл/кг сприятливо впливає лише на рівень фосфоліпідів у печінці.

2. У досліджений термін не спостерігали гіперліпемії після введення етанолу, рівень тригліцеридів у плазмі крові зменшувався. На тлі екстракту яглиці в дозах 100 мг/кг та 1 г/кг показники ліпідного складу плазми крові достовірно не відрізнялися від показників інтактних тварин. Фенофібрат вірогідно зменшує вміст загального холестеролу та холестеролу ЛПВЩ у плазмі крові, зниження останнього показника спостерігали також на тлі настойки яглиці.
3. Здатність до нормалізації ліпідного складу печінки є важливою ланкою фармакодинаміки екстракту і, меншою мірою, настойки яглиці звичайної, що сприятливо доповнює їхню органопротекторну та метаболічну активність, а також антиалкогольну активність екстракту. Доцільні подальші поглиблені дослідження впливу препаратів яглиці звичайної (екстракт у дозах 100 мг/кг та 1 г/кг та настойка в дозі 5 мл/кг) на обмін ліпідів.

1. Recent advances in the discovery and preclinical testing of novel compounds for the prevention and/or treatment of alcohol use disorders / D. L. Davies, M. Bortolato, D. A. Finn [et al.] // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2013. – V. 37, № 1. – P. 8–15.
2. Товчига О. В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпо-урикемічної дії яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) як основа для створення лікарських засобів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук: спеціальність 14.03.05 – фармакологія / Товчига О. В. – Харків, 2009. – 21 с.
3. Койро О. О. Роль біологічно активних речовин яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) у нефропротекторній, гепатопротекторній та гіпоурикемічній дії : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук ; 14.03.05 – фармакологія / Койро О. О. – Харків, 2014. – 20 с.
4. Товчига О. В. Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) на метаболічні процеси в мишей із алоксановим цукровим діабетом / О. В. Товчига // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2012. – № 5. – С. 73–78.
5. Патент на кор. модель 95127 Україна, МПК А61Р 25/32 (2006.01), А61К 36/23(2006.01) Застосування екстракту яглиці звичайної як засобу з антиалкогольною дією / Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Товчига В. А. ; заявник та власник НФаУ. – № u 2014 07336; заявл. 01.07.2014; опубл. 10.12.2014, Бюл. № 23/2014.
6. Pari L. Protective role of caffeic acid against alcohol-induced biochemical changes in rats / L. Pari, K. KarthiKesan // *Fund. Clin. Pharmacol.* – 2007. – V. 21, № 4. – P. 355–361.
7. Chotimarkorn C. The effect of trans-ferulic acid and gamma-oryzanol on ethanol-induced liver injury in C57BL mouse / C. Chotimarkorn, H. Ushio / *Phytomedicine*. – 2008. – V. 15, № 11. – P. 951–958.

8. Preliminary characterization, antioxidant activity *in vitro* and hepatoprotective effect on acute alcohol-induced liver injury in mice of polysaccharides from the peduncles of *Hovenia dulcis* / Wang M., Zhu P., Jiang C. [et al.] // *Food Chem Toxicol.* – 2012. – V. 50, № 9. – P. 2964–2970.
9. Hepatoprotective potential of *Aloe vera* polysaccharides against chronic alcohol-induced hepatotoxicity in mice / Cui Y., Ye Q., Wang H. [et al.] // *J. Sci. Food. Agric.* – 2014. – V. 94, № 9. – P. 1764–1771.
10. Novel effects of a single administration of ferulic acid on the regulation of blood pressure and the hepatic lipid metabolic profile in stroke-prone spontaneously hypertensive rats / Ardiansyah, Ohsaki Y., Shirakawa H. [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2008. – V. 56, № 8. – P. 2825–2830.
11. Quercetin prevents ethanol-induced dyslipidemia and mitochondrial oxidative damage / Tang Y., Gao C., Xing M. [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2012. – V. 50, № 5. – P. 1194–1200.
12. Gnoni G. V. Quercetin inhibits fatty acid and triacylglycerol synthesis in rat-liver cells / G. V. Gnoni, G. Paglialonga, L. Siculella // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2009. – V. 39. – P. 761–768.
13. Comparative studies of some phenolic compounds (quercetin, rutin, and ferulic acid) affecting hepatic fatty acid synthesis in mice / T. O. Odbayar, D. Badamhand, T. Kimura [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – V. 54, № 21. – P. 8261–8265.
14. Kaempferol regulates the lipid-profile in high-fat diet-fed rats through an increase in hepatic PPAR α levels / C. J. Chang, T. F. Tzeng, S. S. Liou [et al.] // *Planta Med.* – 2011. – V. 77, № 17. – P. 1876–1882.
15. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. чл.-кор. РАН, проф. Р. У. Хабриева. – Москва : ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – 456 с.
16. Myricetin increases hepatic peroxisome proliferator-activated receptor – protein expression and decreases plasma lipids and adiposity in rats / Chang C.J., Tzeng T. F., Liou S. S. [et al.] // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* – 2012. – V. 2012. – P. 1–11.
17. Changes in lipoprotein lipase modulate tissue energy supply during stress / D. Ricart-Jané, P. Cejudo-Martín, J. Peinado-Onsurbe [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2005. – V. 99. – P. 1343–1351.
18. Камышников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2002. Т. 1. – 2002. – 495 с.; Т. 2. – 2002. – 463 с.
19. Осадчая Л. М. Методы изучения состава и метаболизма липидов тканей / Л. М. Осадчая // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): под ред. М. И. Прохоровой. – Ленинград : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.
20. Baraona E. Effects of ethanol on lipid metabolism / E. Baraona, C. S. Lieber // *J. Lipid Res.* – 1979. – V. 20, № 3. – P. 289–315.
21. Changes in lipoglycoprotein metabolism in toxic fatty liver / Barisione G., Fontana L., Cottalasso D. [et al.] // *Minerva Gastroenterol Dietol.* – 1993. – V. 39, № 3. – P. 101–112.
22. Dashti N. Effect of ethanol on the synthesis and secretion of apoA-I- and apoB-containing lipoproteins in HepG2 cells / N. Dashti, F. A. Franklin, D. R. Abrahamson / *J. Lipid Res.* – 1996. – V. 37, № 4. – P. 810–824.
23. Studies on the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver. II. Effect of ethanol on palmitate-1-C14 metabolism by the isolated perfused rat liver / R. H. Schapiro, G. D. Drummey, Y. Shimizu, K. J. Isselbacher // *J. Clin. Invest.* – 1964. – V. 43, № 7. – P. 1338–1347.
24. Tsutsumi M. Effect of fenofibrate on fatty liver in rats treated with alcohol / M. Tsutsumi, S. Takase // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2001. – V. 25 (Suppl. 6). – P. 75S–79S.
25. Peroxisome proliferator-activated receptor – activation induces hepatic steatosis, suggesting an adverse effect / Yan F., Wang Q., Xu C. [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – V. 9, № 6. – P. e99245.
26. Absorption and metabolism of caffeic acid and chlorogenic acid in the small intestine of rats / S. Lafay, C. Morand, C. Manach [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2006. – V. 96, № 1. – P. 39–46.

О. В. Товчига, Т. В. Горбач, С. Ю. Штриголь, С. І. Степанова

Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegorodium podagraria* L.) на показники ліпідного обміну в щурів на тлі одноразового введення етанолу

Досліджено ефективність екстракту та настойки надземної частини яглиці звичайної за умов одноразового внутрішньошлункового введення етанолу (9 г/кг) щурам.

Екстракт у дозах 100 мг/кг і 1 г/кг внутрішньошлунково, а також настойка в дозі 5 мл/кг внутрішньошлунково за профілактичного введення достовірно знижували рівень тригліцеридів і холестеролу і збільшували вміст фосфоліпідів у печінці. За вираженістю цих ефектів дані препарати перевершують фенофібрат у дозі 100 мг/кг або не поступаються йому. Сприятливий вплив настойки яглиці в дозі 1 мл/кг виявлявся тільки щодо рівня фосфоліпідів у печінці. У досліджений термін (8 год після введення етанолу) гіперліпідемії не спостерігали, концентрація тригліцеридів у плазмі крові нелікованих тварин достовірно знижувалася. На тлі екстракту яглиці в обох дозах показники ліпідного складу плазми крові достовірно не відрізнялися від таких інтактних щурів. Фенофібрат зменшував рівень холестеролу (загального та ЛПВЩ) у плазмі крові. Зниження холестеролу ЛПВЩ відбувалося також у щурів, які отримували настойку яглиці.

Таким чином, важливою ланкою фармакодинаміки екстракту і, меншою мірою, настойки яглиці звичайної є здатність до нормалізації ліпідного складу печінки. Вона сприятливо доповнює їх відомі органопротекторні властивості, вплив на обмін глюкози й сечової кислоти, а також антиалкогольну активність екстракту.

Ключові слова: яглиця звичайна (Aegopodium podagraria L.), етанол, печінка, метаболізм ліпідів, холестерол, тригліцериди

О. В. Товчига, Т. В. Горбач, С. Ю. Штрыголь, С. И. Степанова

Влияние препаратов сыти обыкновенной (Aegopodium podagraria L.) на показатели липидного обмена у крыс на фоне однократного введения этанола

Исследована эффективность экстракта и настойки надземной части сыти обыкновенной в условиях однократного внутрижелудочного введения этанола (9 г/кг) крысам.

Экстракт в дозах 100 мг/кг и 1 г/кг внутрижелудочно, а также настойка в дозе 5 мл/кг внутрижелудочно при профилактическом введении достоверно снижали уровень триглицеридов и холестерина и увеличивают содержание фосфолипидов в печени. По выраженности этих эффектов данные препараты превосходят фенофибрат в дозе 100 мг/кг, либо не уступают ему. Благоприятное влияние настойки сыти в дозе 1 мл/кг проявлялось только относительно уровня фосфолипидов в печени. В исследованный срок (8 ч после введения этанола) гиперлипидемии не наблюдали, концентрация триглицеридов в плазме крови нелеченных животных достоверно снижалась. На фоне экстракта сыти в обеих дозах показатели липидного состава плазмы крови достоверно не отличались от таковых интактных крыс. Фенофибрат уменьшал уровень холестерина (общего и ЛПВП) в плазме крови. Снижение холестерина ЛПВП происходило также у крыс, получавших настойку сыти.

Таким образом, важным звеном фармакодинамики экстракта и, в меньшей степени, настойки сыти обыкновенной, является способность к нормализации липидного состава печени. Она благоприятно дополняет их известные органопротекторные свойства, влияние на обмен глюкозы и мочевой кислоты, а также антиалкогольную активность экстракта.

Ключевые слова: сыть обыкновенная (Aegopodium podagraria L.), этанол, печень, метаболизм липидов, холестерол, триглицериды

O. V. Tovchiga, T. V. Gorbach, S. Yu. Shtrygol', S. I. Stepanova

The influence of goutweed (Aegopodium podagraria L.) preparations on the lipid metabolism in rats with a single dose of ethanol

The efficacy of the extract and tincture of goutweed aerial part has been investigated in rats receiving a single dose of ethanol (9 g/kg intragastrically).

The extract at doses of 100 mg/kg and 1 g/kg intragastrically, as well as the tincture at a dose of 5 ml/kg intragastrically (prophylactic regimen) caused a statistically significant reduction of triglycerides and cholesterol and increase in the content of phospholipids in the liver surpassing fenofibrate at a dose of 100 mg/kg or being comparable with it. The protective effect of goutweed tincture at a dose of 1 ml/kg was manifested only in the normalization of liver phospholipids. Hyperlipidemia was not observed within the observation period (8 h after ethanol administration); triglyceride concentration in blood plasma of the untreated animals was significantly reduced. Against the background of goutweed extract at both doses there were no statistically significant differences in lipid composition with intact rats. Fenofibrate reduced the level of cholesterol (total and HDL) in the blood plasma, in rats treated with goutweed tincture reduction in HDL cholesterol was also seen.

Thus, the ability to normalize the lipid composition of the liver is an important link in the pharmacodynamics of goutweed extract and, to a lesser extent, of goutweed tincture. This ability is favorably combined with their known organoprotective properties and the influence on glucose and uric acid metabolism, as well as with the anti-alcohol activity of the extract.

Key words: goutweed (Aegopodium podagraria L.), ethanol, liver, lipid metabolism, cholesterol, triglycerides

Надійшла: 25.05.2015 р.

Контактна особа: Товчига Ольга Володимирівна, кандидат фарм. наук, доцент, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 30 69.

О. О. Шевчук

Вплив вуглецевого ентеросорбенту та гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, порушений на тлі застосування алкілуючого цитостатику мелфалану

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України»*

Ключові слова: прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, мелфалан, ентеросорбція, гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор

Протипухлинна поліхіміотерапія (включно з її різновидами, як гормональна, таргентна, інші), променеве лікування, хірургічне втручання та їхня комбінація є основними методами терапії злоякісних новоутворів сьогодні [1]. Сучасні інтенсивні схеми лікування включають комбінацію антинеопластичних препаратів кількох фармакологічних груп, що часто супроводжується розвитком численних побічних ефектів: пригніченням кровотворної функції кісткового мозку, розвитком нудоти, блювання, пригніченням імунітету, пошкодженням епітелію шлунково-кишкового тракту тощо [2]. Вони часто стають вагомим лімітуючим фактором, що значно знижує ефективність лікування, подовжує його тривалість і призводить до суттєвого зниження якості життя онкологічних хворих. Тому в клінічній онкології важливе значення сьогодні має супровідна підтримуюча терапія, яка дозволяє попередити та пом'якшити побічну дію агресивної протипухлинної терапії [3, 4].

Одним з механізмів розвитку побічних ефектів поліхіміотерапії є утворення вільних радикалів та розвиток оксидативного стресу, який посилює прояви ендогенної інтоксикації та токсичного пошкодження клітин [5]. Окрім цього, розвиток неопластичних процесів в організмі, як правило, супроводжується

неспецифічними змінами окисного метаболізму, а саме: системним виснаженням компонентів антиоксидантного захисту [6]. Застосування субстанцій та лікарських засобів, які впливають на вільнорадикальні процеси в організмі, може покращити результати лікування [7], однак ці дані неоднозначні [8].

Слід зауважити, що надмірна ліпопероксидація є одним з механізмів реалізації як терапевтичних ефектів, так і побічних ефектів протипухлинних лікарських засобів, у тому числі мелфалану.

Одним з вагомих факторів, що погіршує ефективність лікування, є розвиток мієлосупресії внаслідок пригнічення кістково-мозкового кровотворення [9]. Саме тому пошук нових методів ефективного пом'якшення побічної дії антинеопластичних лікарських засобів, які б зменшували прояви оксидативного стресу та покращували показники лейкопоезу, не стимулюючи при цьому пухлинний ріст та метастазування, є актуальною проблемою сучасної онкології.

Як показали попередньо проведені нами дослідження на моделі індукованої цитостатиком мелфаланом лейкопенії, застосування сучасного вуглецевого ентеросорбенту С2 та препарату гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора – філграстиму має виражену мієлопротекторну активність, максимальну в разі введення комбінації цих засобів [10]. Також доведено, що така комбінація не стимулює ріст перевивної карциноми Герена та не зменшує ефективності протипухлинної терапії [11].

Мета дослідження – експериментальне вивчення впливу вуглецевого гранульованого ентеросорбенту нового покоління С2 і препарату гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора – філграстиму на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, порушений алкілуючим цитостатиком мелфаланом (L-PAM).

Матеріали та методи. Експерименти проводили на білих нелійних щурах-самцях масою (200 ± 20) г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Піддослідних тварин було розподілено наступним чином ($n = 10$): 1 група – інтактні тварини; 2 – L-PAM, контрольна патологія (тварини, що отримували мелфалан); 3 – L-PAM + С2 (тварини, яким окрім цитостатика вводили вуглецевий ентеросорбент С2); 4 – L-PAM + філграстим (тварини, які отримували філграстим); 5 – L-PAM + С2 + філграстим (тварини, які отримували обидва засоби корекції).

Мелфалан (4-[біс(2-хлоретил)аміно]-L-фенілаланін або L-PAM) – похідне азотистого іприту, яке належить до біфункціональних алкілуючих сполук з циклонеспецифічною дією, та використовується в схемах лікування множинної мієломи, меланом, сарком м'яких тканин для підготовки до трансплантації аутологічного кісткового мозку тощо. Препарат вводили одноразово внутрішньовенно з розрахунку 4 мг/кг. Вуглецевий гранульований ентеросорбент С2 (прототип гемосорбенту ГСГД, насипна вага $0,18 \text{ г/см}^3$, розмір гранул $0,15\text{--}0,25 \text{ мм}$) вводили внутрішньоплунково у вигляді завису в дистильованій воді за допомогою зонда протягом 3 днів до введення мелфалану та 7 днів після цього з розрахунку 5 мл на 1000 г маси щура, що складало 900 мг/кг сухої ваги. Інтактні тварини отримували еквівалентну кількість дистильованої води. Філграстим – офіційний препарат гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора, який вводили підшкірно з розрахунку 50 мкг/кг починаючи з наступного дня після введення мелфалану впродовж 4 днів один раз на добу.

На 8 добу після ін'єкції L-PAM у піддослідних тварин після евтаназії (під кетаміновим знеболенням) для дослідження було взято тканини печінки та

кров. Усі маніпуляції проводили з дотриманням принципів біоетики відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

У гомогенатах тканини печінки та сироватці крові піддослідних тварин проводили визначення первинних та вторинних продуктів вільно-радикального окиснення: гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) [12], ТБК-активних продуктів (ТБП) [13]; показників антиоксидантного захисту: активності супероксиддисмутази (СОД) [14], каталази [15], вмісту відновленого глутатіону (G-SH) [16] та церулоплазміну (ЦП) [17].

Отриманий цифровий матеріал був оброблений методом варіаційної статистики з використанням критерію Манна-Уїтні та однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Розраховували середні арифметичні величини (М), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. У таблиці рівень значимості вказували тільки для достовірних результатів. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel XP (USA) та Origin 7.5 (Origin Lab Corporation, USA).

Результати та їх обговорення. Внутрішньовенне введення L-PAM з розрахунку 4 мг/кг викликає дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу з надмірною активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) (таблиця). Спостерігається зростання вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації. Так у печінці рівень ГПЛ та ТБП був вищим на 131,2 та 85,1 % відповідно, ТБП у сироватці крові – на 64,3 %. Також спостерігали виснаження резервів ендогенного антиоксидантного захисту: активність СОД та каталази у тканині печінки знижувалась на 59,3 та 23,6 % відповідно, а каталази крові – на 34,2 %. Також рівень G-SH та ЦП був нижчим на 17,7 та 13,8 % відповідно порівняно з інтактними тваринами.

Показники прооксидантно-антиоксидантної системи за умов застосування мелфалану та засобів фармакологічної корекції, $M \pm m$, $n = 10$

Показник	Група тварин				
	інтактні тварини	L-PAM	L-PAM + C2	L-PAM + філграстим	L-PAM + C2 + філграстим
ГПЛ, у. о./кг	2,19 ± 0,05	5,06 ± 0,64*	3,12 ± 0,28**	4,54 ± 0,41	3,15 ± 0,19 **, ****
ТБП (печінка), мкмоль/кг	7,04 ± 0,16	13,02 ± 0,82*	7,87 ± 0,75**	10,24 ± 0,72**	7,06 ± 0,77 **, ****
ТБП (кров), мкмоль/л	0,36 ± 0,04	0,59 ± 0,05*	0,39 ± 0,03**	0,70 ± 0,08	0,36 ± 0,03 **, ****
СОД (печінка), у. о./кг	75,96 ± 1,94	30,89 ± 2,93*	58,55 ± 0,25**	46,27 ± 5,76**	82,87 ± 5,61 **, **, ****
Каталази (печінка), кат/кг	65,43 ± 1,27	49,98 ± 4,40*	62,82 ± 2,30**	54,71 ± 2,68	77,26 ± 4,05 **, **, ****
Каталази (кров), кат/л	6,13 ± 0,33	4,03 ± 0,26*	5,04 ± 0,24**	4,66 ± 0,25	5,30 ± 0,36**
G-SH, ммоль/кг	2,03 ± 0,05	1,67 ± 0,04*	2,40 ± 0,04**	1,90 ± 0,05**	2,57 ± 0,04 **, ****
ЦП, мг/л	322,88 ± 11,62	277,90 ± 4,13*	338,32 ± 19,22 **	288,13 ± 14,83	358,65 ± 9,67 **, ****

Примітка. Достовірність $p < 0,05$ відносно: *інтактних тварин; **групи тварин, які отримували мелфалан; ***відносно тварин, які окрім мелфалану отримували сорбент C2; ****відносно тварин, які окрім мелфалану отримували філграстим.

Ентеросорбент C2 сприяв послабленню проявів оксидативного стресу: рівень ГПЛ та ТБП у печінці знижувався на 38,3 та 39,5 % відповідно, ТБП крові – на 34,4 %. Також спостерігали нормалізацію показників ферментативної та неферментативної ланок захисту клітин від надмірних процесів ПОЛ у мембранах клітин, які були на рівні показників інтактних тварин: активність СОД та каталази печінки зростала на 89,6 та 25,7 % відповідно, каталаза сироватки крові – на 24,7 %. Рівні відновленого глутатіону та церулоплазміну навіть були дещо вищими – на 43,8 та 21,7 % відповідно порівняно з контрольною патологією.

Філграстим сприяв зменшенню рівня ТБП у печінці на 21,3 % та зростанню активності СОД на 49,0 % і рівня G-SH – на 13,9 %.

При застосуванні комбінації філграстиму з ентеросорбентом C2 спостерігали максимально виражений вплив на всі показники, які вивчали. Спостерігали зниження рівня продуктів ліпопе-

роксидзації. Показники були нижчі: ГПЛ – на 37,7 %, ТБП у сироватці крові та печінці – на 38,7 та 45,8 % відповідно порівняно з контрольною патологією. Активність СОД та каталази в печінці зростала на 168,3 та 54,6 %, каталази крові – на 31,2 %. Водночас рівні G-SH та ЦП були вищими на 53,6 та 29,1 % відповідно.

У групі тварин, які отримували комбінацію препаратів, рівні ГПЛ та ТБП печінки були нижчими на 30,6 та 31,1 % відповідно, ТБП крові – на 48,1 %; активність СОД та каталази печінки зростала на 79,0 і 41,2 % відповідно, рівень G-SH та ЦП – на 34,9 та 24,5 % порівняно з застосуванням самого лише філграстиму. Активність СОД та каталази була вищою на 41,5 та 23,0 % відповідно в групі L-PAM + C2 + філграстим порівняно з групою L-PAM + C2.

Збільшення швидкості процесів вільнорадикального окиснення – універсальний механізм розвитку багатьох патологічних процесів.

Накопичення продуктів ПОЛ також викликає інактивацію ферментів ендogenous антиоксидантного захисту. Ферменти СОД та каталаза – перша лінія захисту ДНК, мембран, білків, клітинного метаболізму [18], тому відновлення та навіть активація цих ланок ендogenous захисту надзвичайно важлива. Відомо, що біологічні ефекти впливу іонізуючого випромінювання та засобів радіоміметичної дії (до яких належить мелфалан) подібні та супроводжуються розвитком вираженого оксидативного стресу, що підтверджують результати проведеного дослідження.

Сорбційна детоксикаційна терапія, за даними літератури, має значну ефективність як супровідна терапія у хворих з онкопатологією [19, 20]. Як показують отримані нами результати, поєднання ентеросорбції з гемостимулюючими цитокінами, крім мієлопротекторного ефекту, має виражену здатність зменшувати прояви оксидативного стресу, викликаного алкілюючим цитостатиком, та нормалізує прооксидантно-антиоксидантний баланс.

Висновки

1. Алкілюючий цитостатик мелфалан у дозі 4 мг/ кг викликає розвиток оксидативного стресу, про що свідчить надмірне накопичення первинних та

вторинних продуктів переокиснення ліпідів з одночасним зниженням показників ендogenous антиоксидантного захисту.

2. При застосуванні філграстиму спостерігали поліпшення лише деяких показників у гомогенатах печінки (активності супероксиддисмутази, рівня ТБК-активних продуктів та відновленого глутатіону).
3. Вуглецевий гранульований ентеросорбент С2 має вірогідний позитивний вплив на показники надмірного перекисного окиснення ліпідів та посилює мобілізацію ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантного захисту.
4. Лише при поєднаному застосуванні ентеросорбенту С2 з препаратом гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора – філграстином спостерігали максимальні позитивні зрушення: показники рівня продуктів переокиснення мембранних ліпідів та активності антиоксидантного захисту клітин були достовірно кращими порівняно з їхнім монозастосуванням.
5. Отримані результати дають підстави рекомендувати сорбційну детоксикуючу терапію ентеросорбентом С2 у поєднанні з гемостимулюючими цитокінами для подальшого вивчення з метою впровадження в клінічну практику.

1. Онкологія. Вибрані лекції для студентів і лікарів / За ред. В. Ф. Чехуна. – Київ : Здоров'я України, 2010. – 770 с.
2. Викторов А. П. Современные антинеопластические лекарственные средства: проблемы безопасности / А. П. Викторов, Е. В. Матвеева // Здоров'я України. – 2010. – Тематичний номер. Квітень. – С. 26–28.
3. Применение реамберина для снижения опухолевой интоксикации при циторедуктивной полихимиотерапии рака яичников III–IV стадии / В. Г. Черенков, А. Б. Петров, А. А. Шпенкова [и др.] // Вопросы онкологии. – 2012. – № 58 (1). – С. 110–114.
4. Изучение влияния препаратов антиоксидантного действия на физиологические реакции животных, получающих противоопухолевую химиотерапию / П. И. Скопин, А. В. Зорькина, М. Т. Кулаев [и др.] // Биомедицина. – 2011. – № 3. – С. 70–75.
5. Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues / Y. Chen, P. Jungsuwadee, M. Vore [et al.] // Mol. Interv. – 2007. – V. 7, № 3. – P. 147–56.
6. Состояние свободнорадикальных процессов в эритроцитах больных саркомой мягких тканей / П. С. Качесова, И. А. Горошинская, Е. А. Андрейко [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 4. – С. 67–70.
7. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1 / C. B. Simone, N. L. Simone, V. Simone [et al.] // Altern. Ther. Health Med. – 2007. – V. 13. – P. 22–28.
8. Antioxidants accelerate lung cancer progression in mice / V. I. Sayin, M. X. Ibrahim, E. Larsson, [et al.] // Sci. Transl. Med. – 2014. – V. 6. – P. 221ra15
9. Participation of Signaling Cascades in the Regulation of Erythropoiesis under Conditions of Cytostatic Treatment / A. M. Dygai, V. V. Zhdanov, L. A. [et al.] // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2015. – V. 158, № 3. – P. 304–307.

10. Prevention of myelosuppression by combined treatment with enterosorbent and granulocyte colony-stimulating factor / O. O. Shevchuk, K. A. Posokhova, I. N. Todor [et al.] // *Exp Oncol.* – 2015. – V. 37 (2). – P. 135–138.
11. Дослідження мієлопротекторної дії комбінованого застосування вітчизняного рекомбінантного колонієстимулюючого фактора гранулоцитів та ентеросорбенту С2 у щурів зі злоякісною карциномою Герена / І. М. Тодор, Н. Ю. Лук'янова, Н. К. Родіонова [та ін.] // *Наука та інновації.* – 2015. – Т. 11, № 2. – С. 46–52.
12. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкородная // *Лаб. дело.* – 1983. – № 3. – С. 33–35.
13. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // *Лаб. дело.* – 1988. – № 11. – С. 41–43.
14. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // *Лаб. дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
15. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
16. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – V. 82. – P. 70–77.
17. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – Москва: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
18. Мирошниченко О. С. Биогенез, физиологическая роль и свойства каталазы / О. С. Мирошниченко // *Биополимеры и клетка.* – 1992. – Т. 8, № 6. – С. 3–21.
19. Коррекция эндотоксикоза при некоторых онкологических заболеваниях / Ю. И. Бородин, М. С. Любарский, Ю. Э. Наров [и др.] // *Бюллетень СО РАМН.* 2004. – № 2 (112). – С. 7–12.
20. Профілактика за допомогою вуглецевого ентеросорбенту гострої та відстроченої еметогенної токсичності хіміотерапевтичного лікування онкологічних хворих / О. В. Пономарьова, В. М. Півнюк, М. М. Носко [та ін.] // *Онкологія.* – 2008. – Т. 10, № 3. – С. 370–373.

О. О. Шевчук

Вплив вуглецевого ентеросорбенту та гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, порушений на тлі застосування алкілюючого цитостатику мелфалану

Висока токсичність протипухлинної поліхіміотерапії (нейтропенії, мукозитів тощо), частиною якої є розвиток оксидативного стресу, часто є одним з лімітуючих факторів ефективного лікування. Зменшення частоти побічної дії цитостатиків без ослаблення їхньої активності – актуальне завдання сучасної онкології, що дозволило б значно покращити якість життя онкохворих. У попередньо проведених нами дослідженнях було встановлено високу мієлопротекторну активність комбінації сорбційної ентеральної терапії та гемостимулюючого цитокіну. А також доведено, що таке поєднання не стимулює ріст первинної карциноми Герена. *Мета дослідження* – вивчити стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на тлі застосування алкілюючого цитостатику мелфалану (L-PAM) та фармакокорекції за допомогою ентеросорбенту і гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (філграстиму).

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях, яким одноразово доведено було введення L-PAM (4 мг/кг). Для корекції використали вуглецевий гранульований ентеросорбент С2 (протип гемосорбенту ГСГД, насипна вага 0,18 г/см³, розмір гранул 0,15–0,25 мм) та філграстим. Введення цитостатику спричиняло виражений оксидативний стрес зі зростанням вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації та одночасним зниженням показників антиоксидантного захисту. Ентеросорбція сприяла зниженню інтенсивності вказаних процесів з позитивними змінами всіх досліджуваних показників (спостерігалось достовірне зниження вмісту гідроперекисів ліпідів і ТБК-активних продуктів та нормалізація показників ферментативної та неферментативної ланок захисту клітин – СОД, каталази, відновленого глутатіону). При застосуванні філграстиму зафіксовано зниження вмісту ТБК-активних продуктів та менш виражене зростання активності СОД і каталази. Максимально ефективним було введення обох коригуючих чинників, що перевищувало їхнє монозастосування порівняно з філграстимом за всіма досліджуваними показниками; порівняно з ентеральною сорбційною терапією – за активністю СОД та каталази.

Таким чином, поєднане застосування ентеросорбенту С2 та гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора є перспективним способом корекції прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, порушеного алкілюючим цитостатиком.

Ключові слова: прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, мелфалан, ентеросорбція, гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор

О. О. Шевчук

Влияние углеродного энтеросорбента и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз, нарушенный на фоне применения алкилирующего цитостатика мелфалана

Высокая токсичность противоопухолевой полихимиотерапии (нейтропении, мукозитов и других), неотъемлемой частью которой является развитие оксидативного стресса, часто выступает одним из лимитирующих факторов эффективного лечения. Уменьшение частоты побочного действия цитостатиков без ослабления их активности – актуальная задача современной онкологии, с целью улучшить качество жизни онкологических больных. В ранее проведенных исследованиях была установлена высокая миелопротективная активность комбинации сорбционной энтеральной терапии и гемостимулирующего цитокина. А также доказано, что такое сочетание не стимулирует рост прививной карциномы Герена. *Цель исследования* – изучить состояние прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза на фоне применения алкилирующего цитостатика мелфалана (L-PAM) и фармакокоррекции с помощью энтеросорбента и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (филграстима).

Исследования проводили на белых нелинейных крысах-самцах, которым однократно внутривенно вводили L-PAM (4 мг/кг). Для коррекции использовали углеродный гранулированный энтеросорбент С2 (прототип гемосорбента ГСГД, удельный вес 0,18 г/см³, размер гранул 0,15–0,25 мм) и филграстим. Введение цитостатика вызывало развитие выраженного оксидативного стресса с увеличением содержания первичных и вторичных продуктов липопероксидации и одновременным снижением показателей антиоксидантной защиты. Энтеросорбция способствовала снижению интенсивности указанных процессов с положительными изменениями всех изучаемых показателей (наблюдалось достоверное снижение содержания гидроперекисей липидов и ТБК-активных продуктов, а также нормализация показателей ферментативного и неферментативного звеньев защиты клеток – СОД, каталазы, восстановленного глутатиона). При применении филграстима зафиксировано снижение содержания ТБК-активных продуктов и некоторое увеличение активности СОД и каталазы. Максимально эффективным было введение обоих корригирующих факторов, что значительно превышало их моноприменение по сравнению с филграстимом по всем показателям; по сравнению с энтеральной сорбционной терапией – по активности СОД и каталазы.

Таким образом, сочетанное применение энтеросорбции и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора является перспективным способом коррекции прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза, нарушенного применением алкилирующего цитостатика.

Ключевые слова: прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз, мелфалан, энтеросорбция, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

О. О. Shevchuk

The influence of carbonic enterosorbent and granulocyte colony stimulating factor on prooxidant-antioxidant homeostasis impaired by alkylating cytostatic melphalan

High toxicity of anti-cancer chemotherapy (neutropenia, mucositis etc.), which is accompanied by development of oxidative stress frequently is a limiting factor for effective therapy. Decreasing of severity of cytostatics side effects without amelioration of their activity is an actual goal of modern oncology. It can improve the quality of life of oncological patients. Our previous experiments showed high myeloprotective activity of combination of sorption enteral therapy and hemostimulative cytokine. We observed also that such method does not stimulate the growth of grafted Guerin's carcinoma. *The aim of investigation* is to study the prooxidant-antioxidant homeostasis in case of administration of alkylating cytostatic melphalan and pharmacological correction by carbonic enterosorbent and granulocyte colony stimulating factor (filgrastim).

Experiment was carried out on 65 healthy male inbred albino Wistar rats. Melphalan has been injected intravenously as a single dose 4,0 mg/kg of body weight in tail vein. The carbonic granulated enterosorbent C2 (prototype of HSGD with a bulk density $\gamma = 0,18$ g/cm³, and diameter of granules 0,15–0,25 mm) and filgrastim were used as a correction factors. It was observed that cytostatic caused prominent oxidative stress with increasing of levels of primary and secondary products of lipid peroxidation and simultaneous decreasing of antioxidant defense indices. Enterosorption promoted the decrease of intensity of indicated processes with positive changes of all indices (the significant fall of level of lipid hydroperoxides and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and normalization of enzyme and non-enzyme antioxidant defense of cells was seen also – SOD, catalase activity and reduced glutathione level). In case of correction with filgrastim the decreasing of TBARS and not so prominent increasing of SOD and catalase activity were fixed. Combination of both curative factors was the effective maximally and exceeded the mono administration of each one for all studied indices compared with filgrastim; and for SOD and catalase activity, compared with enteral sorption therapy.

So, combination of enterosorption and granulocyte colony stimulating factor is a prospective approach for the correction of prooxidant-antioxidant homeostasis disturbances, induced by alkylating cytostatics.

Key words: prooxidant-antioxidant homeostasis, melphalan, enterosorption, granulocyte colony stimulating factor

Надійшла: 25.05.2015 р.

Контактна особа: Шевчук Оксана Олегівна, доцент, кафедра фармакології з клінічною фармакологією, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, буд. 1, майдан Воли, м. Тернопіль, 46001. Тел.: + 38 0 97 900 65 22.
Електронна пошта: shevchukoo@tdmu.edu.ua

А. І. Юрченко¹, Г. І. Степанюк¹, С. І. Коваленко²,
К. П. Шабельник², О. І. Альчук¹

Порівняльна оцінка впливу 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (сполуки ПК-66) та диклофенаку натрію на перебіг ад'ювантного артриту в щурів

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: ревматоїдний артрит, похідні 4-оксо(аміно-) хіназоліну, диклофенак натрію

Відомо, що поширеність ревматологічних хвороб нині є дуже великою. За даними ВООЗ, такі хвороби, як ревматоїдний артрит (РА) та остеоартроз (ОА) посідають друге місце після серцево-судинної патології, що призводить до зниження рівня життя та працездатності населення [1]. Сучасна фармакотерапія вказаних захворювань спрямована на пригнічення запальної реакції, послаблення болю, покращання рухової активності суглобів та попередження інвалідизації хворих [2, 3]. Препаратами «першої лінії», що відносяться до переліку симптоматичних засобів при захворюваннях опорно-рухового апарату є ненаркотичні анальгетики або нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) [4–6]. Проте, не дивлячись на їхню беззаперечну ефективність, на тлі тривалого застосування можуть виникати побічні реакції – гастро-, гепато- та нефротоксичність, алергічні прояви, порушення з боку серцево-судинної системи, крові та ін. При цьому, за даними літератури, гастротоксичність НПЗЗ та ненаркотичних анальгетиків більшою мірою проявляється за наявності ревматологічних хвороб [6–8]. Тому сьогодні ведеться інтенсивний пошук речовин зі знеболюючою та протизапальною дією серед різних класів природних та хімічних сполук, придатних для створення на їхній основі більш активного та безпечного ненаркотичного анальгетика та НПЗЗ. У

цьому плані привернули увагу нові похідні 4-оксо(аміно-) хіназоліну, яким, за даними літератури [9–11], притаманна низька токсичність та політропні фармакологічні властивості, зокрема, виражена кардіо-, церебро- та стреспротекторна дії.

У попередніх скринінгових дослідженнях серед сполук вказаного хімічного класу речовин було встановлено, що найбільша анальгетична та протизапальна активність на різних моделях болю та запалення притаманна 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойній кислоті (сполуці ПК-66) [12]. У зв'язку з цим постало питання щодо ефективності ПК-66 на експериментальній моделі ад'ювантного артриту (АА), яка є найнаближенішою до РА людини. Для порівняння взято диклофенак натрію, який розглядається сьогодні як золотий стандарт НПЗЗ [13].

Мета дослідження – порівняти вплив сполуки ПК-66 та диклофенаку натрію на ступінь протизапального, знеболюючого ефектів та безпечності в щурів з ад'ювантним артритом.

Матеріали та методи. Досліди проведено на 28 нелінійних щурах обох статей з початковою масою ($165,0 \pm 5,5$) г, з дотриманням правил біоетики – гуманного поводження з тваринами відповідно до положення Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986 р.). Тварин було розподілено на 4 групи (по 7 тварин у кожній), перша група – інтактні щури, друга група – тварини з АА без лікування (контроль). До третьої та четвертої груп входили тварини, яким на тлі розвитку АА вну-

трішньоочеревино (в/о) вводили окремо ПК-66 або диклофенак у дозах, які дорівнювали їх ED_{50} за анальгетичною активністю, 1 мг/кг та 4 мг/кг відповідно [13]. Лікування проводили з 14 по 28 день захворювання. Тварин контрольної групи отримували еквівалентну кількість 0,9 % розчину натрію хлориду.

АА моделювали введенням під плантарний апоневроз правої кінцівки щура 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда (Thermo Fisher scientific) [16]. Дослідження проводили на 14 та 28 добу після інокуляції ад'юванта. Ефективність терапії оцінювали за динамікою набряку ушкодженої кінцівки та величиною порога больової чутливості (ПБЧ) порівняно з показником до лікування, безпечність – за показником летальності щурів та станом слизової оболонки шлунка (СОШ). Товщину ушкодженої кінцівки вимірювали за допомогою механічного приладу. ПБЧ визначали за величиною електричного струму (у вольтах) від приладу ЕСЛ-1, яка викликала попискування тварин. Подразнення (5 імпульс/с, тривалість імпульсу – 5 мс) здійснювали електродом на слизову оболонку прямої кишки, другим електродом була металева підлога клітки, у яку поміщали тварину перед дослідженням [14]. Після закінчення експерименту тварин виводили з досліду під ефірним наркозом, вилучали шлунок, промивали його фізіологіч-

ним розчином та макроскопічно оцінювали стан СОШ [13].

Статистичну обробку цифрових даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Різницю між показниками вважали статистично вірогідною за значення $P \leq 0,05$ [18].

Результати та їх обговорення. На 14 день експерименту, який визначається піком запальної реакції при АА [15], у всіх групах щурів з артритом спостерігали збільшення товщини кінцівки на 63,3–70,0 % та зниження величини показника ПБЧ на 15,7–23,1 % відносно вихідного показника (табл. 1, 2).

На 28 добу досліду в нелікованих тварин з АА спостерігали слабке послаблення запальної реакції, на що вказувало зменшення величини набряку ушкодженої кінцівки лише на 1,2 %. У цей самий термін зменшувалася величина ПБЧ відносно попереднього терміну дослідження ($P > 0,05$), що узгоджується з даними літератури [16, 17].

Курсове лікування щурів з АА сполукою ПК-66 так само, як і диклофенаком натрію, супроводжувалося помітним ослабленням на 28 добу експерименту величини запальної реакції ушкодженої кінцівки, на що вказувало вірогідне зменшення її товщини на 15,0 та 22,4 % відповідно відносно попереднього терміну дослідження.

При цьому викликане досліджуваними речовинами зменшення запальної реакції в ушкодженному суглобі коре-

Таблиця 1

Динаміка запального процесу в ушкодженій кінцівці щурів під впливом диклофенаку натрію та ПК-66 на 14 та 28 добу експерименту, $M \pm m$ ($n = 7$)

Умова досліджу	Товщина кінцівки, мм		
	вихідні показники	14 день	28 день
Інтактні щури	$4,60 \pm 0,15$	$4,70 \pm 0,70$	$4,70 \pm 0,16$
Ад'ювантний артрит (контроль)	$5,00 \pm 0,18$	$8,50 \pm 0,15^*$ (+ 70,0 %)	$8,40 \pm 0,11^*$ (- 1,2 %)
Ад'ювантний артрит + диклофенак натрію	$5,20 \pm 0,09$	$8,50 \pm 0,15^*$ (+ 63,5 %)	$6,60 \pm 0,16^{*#}$ (- 22,4 %)
Ад'ювантний артрит + ПК-66	$4,90 \pm 0,09$	$8,00 \pm 0,29^*$ (+ 63,3 %)	$6,80 \pm 0,28^{*#}$ (- 15,0 %)

Примітка. Тут і в табл. 2: * $p \leq 0,05$ відносно вихідного показника; # $p \leq 0,05$ відносно контролю; * $p \leq 0,05$ відносно попереднього значення. У дужках позначені зміни показників відносно попереднього терміну дослідження, %.

Таблиця 2

Поріг больової чутливості в щурів з ад'ювантним артритом на тлі лікування диклофенаком натрію та ПК-66, $M \pm m$ ($n = 7$)

Умова досліджу	Величина ПБЧ, В		
	вихідні показники	14 день	28 день
Інтактні щури	4,40 $\pm$ 0,30	4,50 $\pm$ 0,30	4,50 $\pm$ 0,17
Ад'ювантний артрит (контроль)	5,20 $\pm$ 0,30	4,00 $\pm$ 0,22 (-23,1 %)	3,90 $\pm$ 0,30* (- 2,6 %)
Ад'ювантний артрит + диклофенак натрію	5,10 $\pm$ 0,30	4,30 $\pm$ 0,22 (-15,7 %)	6,30 $\pm$ 0,20** (+46,5%)
Ад'ювантний артрит + ПК-66	5,20 $\pm$ 0,07	4,20 $\pm$ 0,07* (-19,2 %)	7,30 $\pm$ 0,30** (+73,8 %)

Таблиця 3

Стан слизової оболонки шлунка щурів за ад'ювантного артрити та впливу ПК-66 та диклофенаку натрію, $M \pm m$ ($n = 7$)

Умова досліджу	Кількість тварин з гіперемією в групі, %	Кількість тварин з виразками в групі, %	Середня площа виразок (S_v), бал	Виразковий індекс, у. о	Летальність у групі, %
Ад'ювантний артрит (контроль)	-	-	-	-	0
Ад'ювантний артрит + диклофенак натрію	42,86	51,1	2,60 $\pm$ 0,30	1,32	0
Ад'ювантний артрит + ПК-66	14,3	28,6	1,00 $\pm$ 0,15*	0,29	0

Примітка. * $p \leq 0,05$ порівняно з групою Ад'ювантний артрит + диклофенак натрію.

лювало зі зменшенням больового відчуття, на що вказувало вірогідне зростання напикінці курсу терапії показника ПБЧ на 68,3 та 57,5 % відповідно відносно піка захворювання (14 доба) (табл. 1, 2).

Оцінюючи результати проведеного дослідження, можна зазначити, що 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (сполуці ПК-66) притаманні достатньо виразні протизапальний та знеболюючий ефекти. При цьому за величиною протинабрякової дії на моделі АА вона поступається диклофенаку натрію, вірогідно переважаючи останній у 1,6 разу за ступенем аналгетичного ефекту.

Разом з цим сполука ПК-66 виявилася більш безпечною речовиною, ніж диклофенак натрію. Так, у групі щурів з АА, лікованих ПК-66, кількість тварин (%) з гіперемією СОШ та виразка-

ми шлунка, а також середня площа виразок були вірогідно в 3,0, 1,8 та 2,6 разу меншими, ніж на тлі дії диклофенаку натрію. При цьому за величиною виразкового індексу сполука ПК-66 у 4,5 разу переважала еталонний НПЗЗ (табл. 3).

Таким чином, результати проведеного дослідження вказують на перспективу подальшого вивчення фармакологічних властивостей сполуки ПК-66 на предмет придатності створення на її основі нового достатньо ефективного та більш безпечного, ніж диклофенак натрію, ненаркотичного аналгетика та нестероїдного антифлогістика. Отримані дані цілком узгоджуються з точкою зору провідних фахівців про те, що нині створення нових НПЗЗ має бути орієнтовано не стільки на підвищення ефективності, скільки на більшу безпечність [19].

Висновки

1. Лікування щурів з АА за допомогою 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (сполуки ПК-66), як і диклофенаком натрію, супроводжується достатньо виразними протинабряковими та знеболюючими ефектами. При цьому за ступенем протизапальної дії ПК-66 дещо поступається диклофенаку натрію, переважаючи його в 1,6 разу за показником анальгетичного ефекту.
 2. ПК-66 є більш безпечною ніж диклофенак натрію речовиною щодо впливу на СОШ.
 3. У подальшому доцільно дослідити механізми протизапальних та знеболюючих ефектів сполуки ПК-66.
1. Rheumatoid arthritis classification criteria. An American College of Rheumatology. European League against Rheumatism collaborative initiative / Aletaha D., Neogi T., Silman A. J. [et al.] // *Arthr. Rheum.* – 2010. – V. 62, № 9. – P. 2569–2581.
 2. Амирджанова В. Н. Качество жизни больных ревматоидным артритом, получающих цертулизумаба пэгол // В. Н. Амирджанова, Е. Ю. Погожева // *Науч.-практ. ревматол.* – 2012. – № 54 (5). – С. 80–84.
 3. Simon Tarp, Else M. Bartels, Henning Bliddal [et al.] // *Arthritis & Rheumatism.* – 2012. – V. 64, № 11. – P. 3511–3521.
 4. Коваленко В. Н. Индивидуализация лечения ревматоидного артрита: курс на достижение оптимальных результатов. / В. Н. Коваленко, И. Ю. Головач, О. П. Борткевич // *Укр. ревматол. журн.* – 2011. – № 3 (45). – С. 5–15.
 5. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. / Smolen J. S., Aletaha D., Bijlma J. W. J. [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2011. – № 69 – P. 631–637.
 6. Зупанець І. А. До характеристики гастротоксичної дії нестероїдних протизапальних засобів – неселективних, селективних і специфічних інгібіторів ЦОГ-2 / І. А. Зупанець, Е. А. Андреева // *Ліки України.* – 2005. – № 4. – С. 113–114.
 7. Острые поражения слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта в общемедицинской практике / А. Л. Верткин, Е. И. Горулева, В. С. Иванов [и др.] // *РМЖ.* – 2009. – № 1. – С. 6–11.
 8. John J. Cush, Kathryn H. Dao // *Drug Safety Quarterly.* – 2012. – V. 4 (3). – P. 1–2.
 9. Ходаківський О. А. Нейропротекторна дія похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії головного мозку : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук; спец. 14.03.05 / О. А. Ходаківський; Одес. держ. мед. ун-т. – Одеса, 2009. – 21 с.
 10. Скринінг актопротекторної активності серед похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну / Г. І. Степанюк, О. І. Альчук, О. К. Шевчук [та ін.] // *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.* – 2009. – № 1. – С. 85–88.
 11. Павлов С. В. Церебропротективна активність похідних (4-оксо-4-Н-хіназолін-3-іл)-алкіл (арил) карбонових кислот в умовах імобілізаційного стресу : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05. «Фармакологія» / С. В. Павлов. – Київ, 2007. – 17 с.
 12. Юрченко А. І. Скринінг анальгетичної дії похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну / А. І. Юрченко // *Фармакол. та лікарська токсикологія.* – 2013. – № 2 (33). – С. 89–91.
 13. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – 527 с.
 14. Стефанов А. В. Биоскрининг. Лекарственные средства / Стефанов А. В. – Киев : Авиценна, 1998. – С. 56–58.
 15. Саратиков А. С. Адьювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия) / Саратиков А. С., Венгеровский А. И., Прищеп Т. П. – Томск, 1983. – 104 с.
 16. Вплив «Вінборону» на величину протизапальної та знеболюючої дії диклофенаку при ад'ювантному артриті / Чорноіван Н. Г., Волощук Н. І., Бухтіарова Т. А. [та ін.] // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2008. – № 1–3. – С. 57–59.
 17. Изменение болевой чувствительности у крыс при моделировании заболеваний костно-суставной системы на фоне применения Индометрина / Подплетняя Е. А., Мазур И. А., Мамчур В. И. [и др.] // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* – 2011. – Вип. XXIV, № 2. – С. 4–8.
 18. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе: Практическое руководство / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : Морион, 2002. – 640 с.
 19. Свиницкий А. С. НПВС-гастропатия: состояние проблемы / А. С. Свиницкий, О. Г. Пузанова // *Здоров'я України.* – 2004. – № 3 (88). – С. 26–27.

А. І. Юрченко, Г. І. Степанюк, С. І. Коваленко, К. П. Шабельник, О. І. Альчук **Порівняльна оцінка впливу 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (сполуки ПК-66) та диклофенаку натрію на перебіг ад'ювантного артриту в щурів**

У попередніх скринінгових дослідженнях нових похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну було встановлено, що найбільша анальгетична та протизапальна активність на різних моделях болю та запалення притаманна 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойній кислоті (сполуці ПК-66). Постало питання

дослідити ефективність сполуки лідера (ПК-66) на експериментальній моделі ад'ювантного артриту (АА), яка є найнаближенішою до ревматоїдного артриту (РА) людини.

Мета дослідження – порівняти вплив сполуки ПК-66 та диклофенаку натрію на ступінь протизапального, знеболюючого ефектів та безпечності в щурів з ад'ювантним артритом.

Лікування щурів з АА сполукою ПК-66, як і диклофенаком натрію, супроводжується достатньо виразними протинабряковим та знеболюючим ефектами. При цьому за ступенем протизапальної дії ПК-66 дещо поступається диклофенаку, переважаючи його в 1,6 разу за показником анальгетичного ефекту. Разом з тим, сполука ПК-66 виявилася більш безпечною речовиною, ніж диклофенак натрію щодо впливу на СОШ.

Отримані дані цілком узгоджуються з точкою зору провідних фахівців про те, що нині створення нових нестероїдних протизапальних засобів має бути орієнтовано не стільки на підвищення ефективності, скільки на їхню більшу безпечність.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, похідні 4-оксо(аміно-) хіназоліну, диклофенак натрію

А. И. Юрченко, Г. И. Степанюк, С. И. Коваленко, К. П. Шабельник, А. И. Альчук
Сравнительная оценка влияния 4- [4-оксо- (4Н) -хиназолин-3-ил] бензойной кислоты (соединения ПК-66) и диклофенака натрия на течение адьювантного артрита у крыс

В предыдущих скрининговых исследованиях среди новых производных 4-оксо (аминокислот) хиназолина было установлено, что наибольшая анальгетическая и противовоспалительная активность на различных моделях боли и воспаления характерна для 4-[4-оксо- (4Н) -хиназолин-3-ил] бензойной кислоты (соединения ПК-66). Возник вопрос исследовать эффективность соединения лидера (ПК-66) на экспериментальной модели адьювантного артрита (АА), которая является наиболее приближенной к ревматоидному артриту (РА) человека.

Цель исследования – сравнить влияние соединения ПК-66 и диклофенака натрия на степень противовоспалительного, обезболивающего эффектов и безопасности у крыс с адьювантным артритом.

Лечение крыс с АА с помощью соединения ПК-66 как и диклофенаком натрия сопровождается достаточно выразительным противоотечным и обезболивающим эффектами. При этом по степени противовоспалительного действия ПК-66 несколько уступает диклофенаку натрия, превосходящего в 1,6 раза за показателем анальгетического эффекта. Вместе с этим соединение ПК-66 оказалось более безопасным, чем диклофенак натрия, веществом по воздействию на СОЖ.

Полученные данные вполне согласуются с точкой зрения ведущих специалистов о том, что в настоящее время создание новых нестероидных противовоспалительных средств должно быть ориентировано не только на повышение эффективности, но и на большую безопасность.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, производные 4-оксо (амино-) хиназолина, диклофенак натрия

A. I. Yurchenko, G. I. Stepaniuk, S. I. Kovalenko, K. P. Shabelnik, O. I. Alchuk
Comparative evaluation of the impact of 4- [4-oxo (4H)-quinazolin-3-yl] benzoic acid (substance PC-66) and diclofenac sodium in the course of adjuvant arthritis in rats

In previous screening studies of new derivatives of 4-oxo (amino) quinazoline it was shown that 4- [4-oxo (4H) - quinazolin-3-yl] benzoic acid (substance PC-66) had the greatest analgesic and anti-inflammatory effects in various models of pain and inflammation.

The question arose to investigate the effectiveness of compounds leader (PC-66) on an experimental model of adjuvant arthritis (AA), which is the closest to human rheumatoid arthritis.

Objective: to conduct a comparative assessment of the effects of the substance PC-66 and diclofenac sodium on the degree of anti-inflammatory, analgesic effects and safety in rats with adjuvant arthritis.

Treatment of rats with AA using PC-66 compound as diclofenac accompanied by pronounced anti-edematous and analgesic effects.

The degree of anti-inflammatory action of PC-66 is somewhat inferior to diclofenac sodium, surpassing its 1.6-fold in terms of analgesic effect.

Substance PC-66 was safer than diclofenac sodium for gastric mucosa.

The data is quite consistent with the views of leading experts that creating of new nonsteroidal anti-inflammatory drugs now should be focused not so much on efficiency as their greater safety.

Key words: rheumatoid arthritis, 4-oxo (amino) quinazoline derivatives, diclofenac sodium

Надійшла: 06.05.2015 р.

Контактна особа: Степанюк Георгій Іванович, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел. + 38 0 432 57 03 60.

И. Э. Кузнецов

Фармакоэкономические аспекты применения ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа для лечения пациентов с эректильной дисфункцией

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Ключевые слова: эректильная дисфункция, ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа, силденафил, фармакоэкономика

Эректильная дисфункция (ЭД) характеризуется неспособностью мужчины совершить половой акт. При этом у пациента отмечается невозможность достижения либо поддержания ригидности полового члена (эрекции), достаточной для удовлетворительной сексуальной деятельности [1]. По данным исследования MMAS (Массачусетское исследование по изучению вопросов старения мужчин), у 52 % мужчин старше 40 лет развивается ЭД разной степени выраженности [2]. Данное патологическое состояние отмечается в более молодом возрасте у пациентов, страдающих сахарным диабетом (СД), патологией сердечно-сосудистой системы и др. [3]. Так, если в основной популяции начало половых нарушений приходится на 40 лет и старше, то в группе пациентов с СД нарушения половой функции нередко встречаются уже в 25 лет, достигая 20 %, а в возрасте 70 лет – 95 % [3].

Значительным прорывом в терапии ЭД стало появление на фармацевтическом рынке в 1998 году первого ингибитора фосфодиэстеразы 5-го типа – силденафила [4, 5]. Вслед за силденафилом в медицинскую практику вошли и другие представители данного класса соединений, позиционируемые как более эффективные и безопасные, а также обладающие относительно невысокой ценой: тадалафил (Сиалис®, Eli Lilly) и варденафил (Левитра™, Bayer-Schering), а также уденафил (Зидена®, Валента Фармацевтика), которые нашли применение в лечении и других заболеваний, помимо ЭД [6–11].

Цель исследования – попытка в фармакоэкономическом аспекте оценить место ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа в лечении ЭД, а также оценить место наиболее известных представителей этого класса соединений в терапии данной патологии.

С середины 2000-х годов перед врачами и пациентами встал вопрос об объективном и рациональном выборе одного из четырех ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа для конкретного пациента. В первую очередь, выбор между существующими на рынке ингибиторами фосфодиэстеразы 5-го типа осложняется тем, что все четыре представителя имеют сходный механизм действия и сопоставимую стоимость. По данным мониторинга цен на август 2010 года, относительная стоимость одной упаковки (4 таблетки) эквивалентных доз силденафила, тадалафила, варденафила и уденафила составила 143, 166, 135 и 100 % соответственно. Важно отметить, что в настоящее время нет данных о качественных сравнительных клинических исследованиях, которые бы выявили достоверные различия в эффективности или безопасности присутствующих на рынке ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа [3].

Тем не менее, следует привести ряд особенностей данных препаратов, которые позволяют оптимизировать такой выбор для врача и пациента. В работе [12] на основе анализа опубликованных клинических исследований силденафила и варденафила приводятся данные, что при применении в дозе 50 мг и 100 мг улучшение эрекции отметили 77 и 84 % мужчин соответственно. Силденафил был эффективным у мужчин с ЭД, связанной с диабетом и раком предстательной железы. Также силденафил безопа-

сен при применении у мужчин, страдающих ишемической болезнью сердца при условии, что он не используется совместно с нитратами (прямое противопоказание).

Препарат варденафил является одинаково эффективным по сравнению с препаратом силденафил при лечении ЭД. Единственное преимущество варденафила перед силденафилом состоит в том, что он не ингибирует фосфодиэстеразу-6, то есть не влияет на цветовосприятие (редкий побочный эффект, отмечаемый при применении силденафила).

Тадалафил имеет большую длительность фармакологического действия в сравнении с силденафилом и варденафилом. По эффективности тадалафил сопоставим с силденафилом в дозировке 50 и 100 мг. Однако в сравнительных исследованиях показано, что тадалафил оказался предпочтительным у мужчин с ЭД благодаря большей продолжительности действия, что связано с его более длительным периодом полувыведения – более 17 часов [11]. Для сравнения, длительность периода полувыведения варденафила и силденафила составляет порядка 4 ч [11]. По мнению авторов, именно эта особенность фармакокинетики может расширить рыночный сегмент тадалафила за счет сокращения сегментов силденафила и других представителей ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа [12].

Следует отметить еще один немаловажный факт, что еда, особенно жирная пища, влияет на фармакокинетические профили силденафила и варденафила, в отличие от тадалафила [11].

Другой представитель класса ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа – уденафил на сегодняшний день занимает относительно небольшой сегмент рынка ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа, так как зарегистрирован в ограниченном числе стран – Южной Кореи, Российской Федерации, Филиппинах [13].

Препарату присущи положительные фармакокинетические характеристики, при приеме внутрь пиковая концентрация достигается достаточно быстро ($T_{\max} = 1,0\text{--}1,5$ ч). Также отмечается длительный период полувыведения –

$T_{1/2} = 11\text{--}13$ ч, величина которого близка к таковой тадалафила. Для уденафила отмечается быстрое наступление фармакологического эффекта и его значительная длительность. Эти данные отображены в клинических исследованиях, обобщенных в работе [10]. В дозировках 100 и 200 мг по величине эффекта он близок к силденафилу. В настоящее время тадалафил является единственным FDA-одобренным препаратом для ежедневного дозирования, но уденафил может быть использован в одноразовой суточной дозе для терапии ЭД у пациентов, которые не переносят тадалафил. Однако на сегодняшний день особенности применения уденафила у лиц, страдающих различными тяжелыми заболеваниями (СД, гипертонией, доброкачественной гиперплазией предстательной железы и др.), недостаточно изучены, что ограничивает его применение у этих категорий пациентов [10].

По состоянию на 2010-е годы доминирующую часть рынка препаратов ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа по-прежнему занимает силденафил. С первых лет применения силденафила в клинике ЭД заметно сократилось использование других методов лечения этого заболевания в связи с более позитивными клиническими и фармакоэкономическими показателями последнего [14].

Так, авторы работы [15] приводят данные Национальной службы здравоохранения Великобритании (NHS) оценки ежегодных прямых затрат на лечение ЭД и освещают роль терапии силденафилом в 1997–2000 годах. В данном исследовании было оценено количество и стоимость выписанных рецептов врачами общей практики, число консультативных заключений, количество консультаций врачей-специалистов, а также число сеансов психосексуальной терапии и ряд других показателей. Также оценивались средства Национальных программ, потраченные на лечение нарушений эректильной функции. Показано, что между 1997 и 2000 годом число людей, обратившихся с данной проблемой к врачу, увеличилось с 79 800 до 257 984.

Общая стоимость расходов на рецептурные препараты силденафила возросла с 29,4 до 73,8 млн фунтов стерлингов (по оценкам 2000 г.). Однако стоимость затрат на одного пациента упала с 368 до 286 фунтов стерлингов, что связывают с рациональным применением препаратов. Применение силденафила существенно снизило частоту применения альтернативных методов терапии ЭД (интракавернозных инъекций, психосексуальной терапии и др.) [15].

Результаты оценки эффективности и экономических затрат при терапии ЭД силденафилом на примере Портсмута и Юго-Восточного Гэмпшира, приведенные департаментом здравоохранения Великобритании, свидетельствуют о том, что при сравнении общих расходов за период 12 месяцев, предшествовавших появлению на фармацевтическом рынке силденафила, и за аналогичный период после выхода препарата сокращение расходов, связанных с лечением ЭД, составило 70 % (включает расходы на терапию и привлечение медицинского персонала), что составило сумму 232 619 фунтов стерлингов. В течение следующего года сумма расходов на лечение ЭД составляла близкую сумму – 225 108 фунтов стерлингов. Таким образом, применение силденафила для лечения ЭД, несмотря на высокую стоимость инновационного препарата, обеспечило существенное снижение общих расходов на лечение как за счет снижения количества препаратов для терапии данной патологии, так и за счет сокращения объема медицинских процедур [16].

При назначении ингибиторов фосфодиэстеразы 5 типа достаточно решения врача общей практики (семейного врача), имеющего представление о наличии факторов риска у пациента (например, образ жизни и социально-психологические факторы), что может исключать консультацию узкого специалиста. Это снижает как финансовые затраты пациентов, так и общие расходы здравоохранения. Как правило, таблетки силденафила 25–100 мг считаются препаратами первой линии для терапии ЭД и являются эффективными у 70 % мужчин [17]. В этом отношении

силденафил, варденафил и тадалафил являются более выигрышными в сравнении с апоморфином (подъязычные таблетки), а также методами лечения ЭД второй линии, включающими интракавернозные инъекции (алпростадил, папаверин, фентоламин и комбинации этих препаратов) и внутриуретральное введение алпростадил. Аналогичные результаты были получены при оценке экономической и клинической эффективности силденафила по сравнению с терапией инъекциями папаверина или фентоламина, продемонстрировавшие достоверное снижение затрат [17]. Следует отметить, что общие затраты на терапию различных заболеваний при медицинском страховании существенно не увеличиваются при включении в страховку силденафила [17].

Важна оценка возрастной категории мужчин, применяющих ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа для лечения ЭД. Целью исследования [18] было изучение категорий потребителей силденафила для лечения ЭД. Изучая данные амбулаторного лечения за период с 1998 по 2002 годы в США, ретроспективно было проанализировано более 5 млн рецептов, выданных лицам в возрасте 18 лет и старше. Отмечено общее увеличение доли силденафила среди других препаратов с 0,8 % (1998 г.) до 1,4 % (2002 г.). В то же время использование препарата у пожилых мужчин снижалось, а у более молодых пациентов увеличивалось. При этом наиболее быстро растущий сегмент потребителей составили мужчины в возрасте 18–45 лет.

Похожая работа была выполнена в Тайване, авторы которой представили результаты сравнительной оценки эффективности терапии силденафилом и инъекционным введением алпростадил для лечения ЭД [19]. Отмечена значительная эффективность и удобство применения силденафила, что выразилось в увеличении национальных продаж на 136 % (с 0,7 млн таблеток в 1999 г. до 1,6 млн таблеток в 2002 г.), в то время как продажи инъекционного алпростадил упали на 33 %. Доля рынка силденафила в аптеках Тайваня выросла с 41 % в 1999 году до

72 % в 2002 году. Похожие тенденции продаж силденафила отмечали и при назначениях в клинике. Отмечено уменьшение среднего возраста пациентов, получающих силденафил с 57–63 до 45–50 лет ($p < 0,001$). В то же время возраст пациентов, предпочитающих инъекционный алпростадил, увеличился до 60–69 лет ($p < 0,05$).

Целью исследования [20] было сравнение стоимости лечения и клинической эффективности терапии силденафила цитратом (Виагра, Pfizer Inc., США) и избирательными ингибиторами обратного захвата серотонина (SSRI) для лечения ЭД у пациентов, получающих антидепрессивную терапию. Была проанализирована информация о стандартных ценах антидепрессантов, силденафила, а также удельных затрат визитов к врачу в рамках медицинской помощи и общей стоимости годовых затрат на лечение депрессии. Отмечено, что 6-месячная терапия депрессии, включающая силденафил, имела самую низкую стоимость по сравнению с другими схемами терапии [20].

Сравнение экономической эффективности различных схем применения варденафила (4, 6 и 8 доз в месяц) было проведено с использованием модели Маркова [21]. Была оценена зависимость «финансовые затраты – эффективность» у 60-летних мужчин с ЭД, получавших плацебо или четыре, шесть и восемь доз варденафила в один месяц. Анализ отношения «стоимость – качество жизни» для пациентов данного возраста показал оптимальное применение четырех доз варденафила в месяц (сумма 576 долларов США). Применение шести доз в один месяц увеличивало стоимость терапии до 2585 долларов США, а восьми – до 5169 долларов США. При этом для пациентов отмечался финансовый порог готовности платить [21].

Тадалафил, попавший на фармацевтический рынок в середине 2000-х годов, показал значительную эффективность при терапии ЭД. Так, было продемонстрировано, что тадалафил не только эффективно улучшает эректильную функцию, но также оказывает положительное влияние на качество

сексуальной жизни мужчин и их партнеров-женщин [22]. Показана эквивалентность эффекта тадалафила в дозе 5 мг и силденафила в дозе 50 мг. Оценка расходов на терапию обоими препаратами достоверно не отличалась ($p > 0,05$). Частота и выраженность нежелательных реакций была близка. Кроме того, пациенты, получавшие тадалафил, отмечали большую длительность фармакологического эффекта [22].

Авторы [23] оценивали экономическую и клиническую эффективность силденафила по результатам соответствующих расходов в США, Великобритании, Мексике, Канаде и ряде других стран у пациентов с ЭД. Были оценены экономические затраты, экономическая эффективность, стоимость лечения болезни, использования ресурсов системы здравоохранения, экономические потери, а также платежеспособность пациентов. Анализ проведен за период с июля 2001 по июль 2011 года с использованием библиографических баз MEDLINE и EMBASE. Результаты проведенного анализа свидетельствовали о том, что применение силденафила позволило снизить прямые затраты по сравнению с другими ингибиторами фосфодиэстеразы 5-го типа (варденафил и тадалафил). Исследования, проведенные в США и Великобритании, также продемонстрировали большую приверженность пациентов с ЭД препаратам силденафила. В Мексике и Канаде показано незначительное преимущество тадалафила по сравнению с другими ингибиторами фосфодиэстеразы 5-го типа. В частности, продемонстрирована его большая эффективность и экономическая привлекательность при лечении эректильной дисфункции у пациентов с СД [23].

В обзоре результатов клинических исследований, опубликованных в интервале между 1999 и 2001 годами [24], указывается на значительную эффективность и экономический эффект лечения силденафилом пациентов с ЭД, развившейся вследствие простатэктомии, а также на фоне лучевой терапии, СД, ряда неврологических расстройств и их лекарственной терапии с применением селективных инги-

биторов обратного захвата серотонина.

Сравнительная доступность для широких масс населения, достаточно высокая эффективность и безопасность силденафила была продемонстрирована анализом потребления силденафила на основе 67 914 аптечных рецептов, выписанных в течение 2001 года для 20 281 пациента [25]. В данной работе было показано, что в среднем человек, страдающий ЭД, получал 3,3 аптечных рецепта в один год. Силденафил востребован для терапии в среднем у 54,1 на 1000 мужчин в возрасте 18 лет и старше. Общий объем оплаты за 1 аптечный рецепт составил 3,56 доллара США на одного пациента в один месяц. Частота проявления побочных реакций со стороны сердечно-сосудистой системы была достаточно низкой – до 1,6 %. Общие расходы на терапию нежелательных реакций составили 457 долларов США. При рациональном применении силденафила с учетом групп риска частота таких побочных эффектов снижалась более чем в 2 раза. Общие расходы на терапию нежелательных реакций снижались до 296 долларов США [25].

В работе [26] приводятся данные финансовых расходов при применении известных ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа (силденафил, тадалафил, варденафил). Анализируя эффективность, безопасность, а также стоимость препаратов и лечения, авторы указывают на доминирование на рынке препаратов силденафила. По мнению авторов, это связано как с эффективностью препарата, так и с большей изученностью, маркой бренда (Виагра, Pfizer Inc., США) и активной маркетинговой политикой [26].

По данным исследования, проведенного в США и представленного на 11 Международном Конгрессе Международного общества фармакоэкономики и оценки рисков (International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research), тадалафил является наиболее экономически эффективным пероральным препаратом для терапии ЭД [27]. Авторами была использована Марковская модель для оценки данных 10 000 мужчин в возрасте 60 лет и старше, страдавших ЭД, для сравнения

экономической эффективности силденафила 50 мг, тадалафила 10 мг и варденафила 10 мг. Пациенты получали по шесть таблеток в один месяц или плацебо. По данным авторов, общая стоимость лечения тадалафилом составила 56 000 долларов США, по сравнению с 68 000 долларов США – варденафилом, и 76 000 долларов США – силденафилом [27].

В работе [28] авторы рассматривают фармакоэкономические аспекты применения силденафила (Виагра) и двух ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа – тадалафила (Сиалис) и варденафила (Левитра) у пациентов с СД. При относительно близкой цене и равноценной эффективности предполагается индивидуальный подход к терапии с учетом основного заболевания и сопутствующей патологии. В этом аспекте лидирует силденафил как наиболее изученный препарат [28].

Целью исследования [29] была оценка эффективности, безопасности и экономической рациональности применения различных ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа. Авторы использовали демографические данные пациентов и данные в истории болезней, касающиеся терапии ЭД с января 2000 по апрель 2011 года. В исследовании приняли участие 2159 пациентов, средний возраст которых составил 60,2 лет (минимальный 23 года, максимальный 90 лет). Средняя продолжительность наблюдения составила 50,8 месяца (минимальная – 1 месяц, максимальная – 127 месяцев). 696 пациентов принимали силденафил, 990 – тадалафил, 163 – варденафил и 84 пациента получали интракавернозный алпростадил. Следует отметить, что 18,0 % пациентов отказались от приема лекарства в одностороннем порядке; 12,3 % в течение терапии изменили назначенный в начале лечения препарат. Показано, что стоимость исследуемых лекарств в течение периода наблюдения пропорционально возрастала с 257 100 фунтов стерлингов в 2000 году до 352 519 фунтов стерлингов в 2011 году. В фармакоэкономическом аспекте показано превосходство терапии силденафилом и тадалафилом [29].

Важно отметить, что расширение сегмента силденафила на фармацевтическом рынке может принести форма силденафила цитрата в виде орального спрея (Duromist). По мнению разработчиков (NovaDel Pharma Inc., США), такая лекарственная форма позволяет улучшить фармакокинетические характеристики существующих твердых форм силденафила для орального применения [30]. Низкая растворимость силденафила в воде и интенсивное разрушение в печени при первом прохождении (пресистемный метаболизм) существенно снижают его биодоступность, которая при приеме твердых дозированных препаратов силденафила в среднем составляет 40 %. В оральном спрее силденафил уже находится в растворенном состоянии и абсорбируется слизистой оболочкой ротовой полости и языка, что обеспечивает более высокую биодоступность за счет относительного снижения количества действующего вещества, подвергающегося пресистемному метаболизму в печени. Повышение биодоступности препарата в виде спрея дает возможность достигать ожидаемого эффекта при использовании более низких доз силденафила по сравнению с таблетками. По этой же причине ожидается, что терапевтический эффект силденафила должен наступать быстрее в сравнении с таблетированными формами [30].

В 2010 году NovaDel Pharma Inc. объявила о положительных результатах пилотного исследования орального спрея Duromist, а в 2011 – представила в FDA заявку (Investigational New Drug, IND) и программу дальнейших исследований этого препарата. Цель этого пилотного фармакокинетического исследования, в котором приняли участие 24 взрослых здоровых добровольца мужского пола, была оценка относительной биодоступности одной, двух и трех доз спрея по 10 мг/0,12 мл по сравнению с таблетками Виагра по 25 мг. Полученные результаты оправдали ожидания разработчиков в части более высокой биодоступности спрея: две последовательные актуации насоса-дозатора (20 мг силденафила) создавали в плазме крови добровольцев профиль, анало-

гичный по площади под кривой (AUC) профилю таблетки Виагра 25 мг. Средняя AUC для одной актуации насоса-дозатора (10 мг силденафила) составляла приблизительно 40 % от AUC 25 мг таблетки Виагра, тогда как средняя AUC для 30 мг (3 дозы спрея) была приблизительно на 40 % выше, чем таблетки Виагра 25 мг, что примерно на 20 % превышало ожидаемое значение и подтверждало частичную абсорбцию силденафила в ротовой полости [30].

Существенных различий средних значений максимальной концентрации в плазме крови ($C_{\max}$) и времени ее достижения ($T_{\max}$) между спреем и таблетированной формой выявлено не было. Спрей характеризовался хорошей переносимостью, которую оценивали по проявлениям побочного действия, а также показателям АД в положении лежа на спине и стоя (для выявления ортостатической гипотензии), ЭКГ до и после приема препарата, изучения состояния мягких тканей щек, неба и языка после распыления каждой дозы спрея, а также лабораторным показателям крови и мочи.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что дозированный спрей на основе силденафила цитрата имеет ряд преимуществ по сравнению с твердыми формами для орального применения, к которым следует отнести более высокую системную экспозицию при приеме эквивалентных доз, что позволяет достигать аналогичных эффектов при приеме более низких доз и, соответственно, лучший профиль безопасности, возможность титрования дозы с шагом 10 мг, тогда как таблетированные формы силденафила производятся в 3 дозировках (25, 50 и 100 мг), а также удобством применения, поскольку не требуется запивание водой [16, 30].

Резюмируя данные, представленные в настоящем обзоре, следует отметить, что терапия ингибиторами фосфодиэстеразы 5-го типа является доминирующей тактикой терапии ЭД. Среди препаратов данной группы по показателю фармакоэкономической рациональности ведущее место занимает силденафил, в первую очередь, за счет

большей изученности, которая раскрывает для препарата новые сферы медицинского применения (легочная гипертензия). При этом следует заметить, что немалую роль такой популярности силденафила сыграл активный маркетинг. Тадалафил несколько уступает силденафилу, составляя конкуренцию ему, в первую очередь, благодаря лучшему фармакокинетическому и фармакодинамическому профи-

лю. Варденафил, несмотря на более высокую эффективность, занимает третье место. Уденафил, хотя и обладает значительной эффективностью и относительной дешевизной в сравнении с другими препаратами данной группы, занимает последнее место как из-за новизны и сравнительно меньшей изученности, так и из-за ограниченного числа стран, где он разрешен к медицинскому применению.

1. Фармакотерапия эректильной дисфункции / Мазо Е. Б., Дмитриев Д. Г., Гамидов С. И., Овчинников Р. И. // РМЖ. Независимое издание практикующих врачей [Электронный ресурс]. – Доступ до файлу: http://rmj.ru/articles_1461.htm
2. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: longitudinal results from the Massachusetts male aging study / Johannes C. B., Araujo A. B., Feldman H. A. [et al.] // J. Urol. – 2000. – V. 163, № 2. – P. 460–463.
3. Рафальский В. В. Подходы к рациональному выбору ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа у пациентов с сердечно-сосудистыми и эндокринными заболеваниями / Рафальский В. В., Багликов А. Н. // Проблемы эндокринологии. – 2010. – № 6. – С. 63–72.
4. Quality of erections in men treated with flexible-dose sildenafil for erectile dysfunction: Multicenter trial with a double-blind, randomized, placebo-controlled phase and an open-label phase / Kadioglu A., Grohmann W., Depko A. [et al.] // J. Sex Med. – 2008. – V. 5. – P. 726–734.
5. Sildenafil: study of a novel oral treatment for erectile dysfunction in diabetic men / Price D. E., Gingell J. C., Gepi-Attee S. [et al.] // Diabetic Medicine. – 1998. – V. 15, № 10. – P. 821–825.
6. Available Pharmaceutical M&A and Licensing Opportunities for Life Science Professionals [Электронный ресурс]. – Доступ до файлу: (<http://www.avarx.com/AvaRx/SubDomains/bucket08ebb00c4ebcb53ecfeea46977d1/Listings/bucket78b2641247cfbb6f48ffd461778a/Public.Listing.display.html>)
7. Efficacy and safety of tadalafil once daily: considerations for the practical application of a daily dosing option / Donatucci C. F., Wong D. G., Giuliano F. [et al.] // Current Medical Research & Opinion. – 2008. – V. 24, № 12. – P. 3383–3392
8. Phosphodiesterase type 5 inhibitors in pulmonary arterial hypertension / Montani D., Chaumais M.-C., Savale L. [et al.] // Advances in Therapy. – 2009. – V. 26, № 9. – P. 813–825.
9. Vardenafil for the treatment of erectile dysfunction: an overview of the clinical evidence / Morales A. M., Mirone V., Dean J., Costa P. // Clin. Interv. Aging. – 2009. – № 5. – P. 463–472.
10. Sung Gu Kang. Udenafil: efficacy and tolerability in the management of erectile dysfunction / Sung Gu Kang, Je Jong Kim. // Ther Adv Urol. – 2013. – V. 5, № 2. – P. 101–110.
11. Wright P. J. Comparison of phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitors International Journal of Clinical Practice / P. J. Wright. – 2006. – V. 60, № 8. – P. 967–975.
12. Doggrell S. A. Comparison of clinical trials with sildenafil, vardenafil and tadalafil in erectile dysfunction / Doggrell S. A. // Expert opinion on Pharmacotherapy. – 2005. – V. 6, № 1. – P. 75–84.
13. Drugs.com. Zyderna [Электронный ресурс]. – Доступ до файлу: <http://www.drugs.com/international/zydena.html>
14. Economic aspects of medical erectile dysfunction therapies / Anastasiadis A. G., Ghafar M. A., Shabsigh R., Burchardt M. // Expert Opinion on Pharmacotherapy. – 2002. – V. 3, № 3. – P. 257–263.
15. The Cost to the United Kingdom National Health Service of Managing Erectile Dysfunction The Impact of Sildenafil and Prescribing Restrictions / Wilson E. C. F., McKeen E. S., Scuffham P. A. [et al.] // Pharmacoeconomics. – 2002. – V. 20, № 13. – P. 879–889.
16. UK Department of Health Guidance on Prescribing for Impotence Following the Introduction of Sildenafil / Ashton-Key M., Sadler M., Walmsley B. [et al.] // Pharmaco Economics. – 2002. – V. 20, № 12. – P. 839–846.
17. Lyseng-Williamson K. A. Management of Erectile Dysfunction / Lyseng-Williamson K. A., Wagstaff A. J. // Disease Management & Health Outcomes. – 2002. – V. 10, № 7. – P. 431–452.
18. Delate T. Patterns of use of sildenafil among commercially insured adults in the United States: 1998–2002 / Delate T., Simmons V. A., Motheral B. R. // International Journal of Impotence Research. – 2004. – V. 16. – P. 313–318.
19. Jiann B. P. Impact of introduction of sildenafil on other treatment modalities for erectile dysfunction: a study of nationwide and local hospital sales / Jiann B. P., Yu C. C., Su C. C. // International Journal of Impotence Research. – 2004. – V. 16. – P. 527–530.

20. Nurnberg H. G. Economic Analysis of Sildenafil Citrate (Viagra®) Add-on to Treat Erectile Dysfunction Associated With Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Use / Nurnberg H. G., Duttgupta S. // American Journal of Therapeutics. – 2004 – V. 11, № 1. – P. 9–12.
21. Incremental cost-effectiveness of various monthly doses of vardenafil / Aspinall S. L., Smith K. J., Cunningham F. E., Good C. B. // Value Health. – 2011. – V. 14, № 1. – P. 97–101.
22. Tadalafil improves partner QOL too / Pharmacoeconomics & Outcomes News. – 2009. – V. 579, № 1. – P. 13–15.
23. A Systematic Review Assessing the Economic Impact of Sildenafil Citrate (Viagra®) in the Treatment of Erectile Dysfunction / Martin A. L., Huelin R., Wilson D. [et al.] // The Journal of Sexual Medicine. – 2013. – V. 10, № 5. – P. 1389–1400.
24. Boyce E. G. Sildenafil citrate: A therapeutic update / Boyce E. G., Umland E. M. // Clinical Therapeutics. – 2001. – V. 23, № 1. – P. 2–23.
25. Cooke C. E. Utilization and Cost of Sildenafil in a Large Managed Care Organization With a Quantity Limit on Sildenafil / Cooke C. E., Wong W., Lee H. // Journal of Managed Care Pharmacy. – 2005. – V. 11, № 8. – P. 674–680.
26. Sildenafil cost effective, so methodological flaws irrelevant? / Pharmacoeconomics & Outcomes News. – 2013. – V. 277. – P. 2–7.
27. Tadalafil tops in erectile dysfunction / Pharmacoeconomics & Outcomes News. – 2006. – V. 508, № 1. – P. 5.
28. Cummings M. H. Exercising current treatments for erectile dysfunction in diabetes: effective, economic and ego-boosting / Cummings M. H., Shaw K. // Practical Diabetes International. – 2004. – V. 21, № 6. – P. 211–212.
29. Management of ED under the «Severe Distress» Criteria in the NHS / Mohee A., Bretszajn L., Storey A., Eardley I. // A Real-Life Study The Journal of Sexual Medicine. – 2014. – V. 11, № 4. – P. 1056–1062.
30. NovaDel Reports Opening of Duromist™ original IND with FDA [Електронний ресурс]. – Доступ до файлу: http://www.businesswire.com/news/home/20110602005359/en/NovaDel-Reports-Opening-Duromist%E2%84%A2-original-IND-FDA#.VQGCaoG2_cc

І. Е. Кузнєцов

Фармакоєкономічні аспекти застосування інгібіторів фосфодіестерази 5-го типу для лікування пацієнтів з еректильною дисфункцією

У роботі наведено фармакоєкономічну оцінку інгібіторів фосфодіестерази 5-го типу, що застосовуються в терапії еректильної дисфункції. Відзначено, що дотепер залишається відкритим питання раціонального вибору одного з 4 препаратів (силденафілу, тадалафілу, варденафілу або уденафілу) для конкретного пацієнта, оскільки препарати на основі вказаних активних інгредієнтів мають близький механізм дії та зрівнянну вартість. Крім того, у літературі відсутні дані щодо якісних порівняльних клінічних досліджень, у яких були б продемонстровані достовірні відмінності в ефективності або безпеці існуючих на ринку інгібіторів фосфодіестерази 5-го типу.

Аналіз даних щодо ефективності, безпечності та економічної раціональності застосування різних інгібіторів фосфодіестерази 5-го типу дозволив зробити висновок, що за фармакоєкономічною оцінкою лідируючі позиції займає силденафіл, завдяки його більшій вивченості та прихильності пацієнтів.

Зазначено, що розширенню сегменту силденафілу на фармацевтичному ринку може сприяти нещодавно розроблена форма силденафілу у вигляді орального спрею. Дозований спрей на основі силденафілу цитрату має низку переваг порівняно з твердими формами для орального застосування. Більша системна експозиція такої лікарської форми дозволяє досягати порівнюваних терапевтичних ефектів за прийому менших доз, характеризується кращим профілем безпеки, можливість титрування дози з кроком 10 мг, тоді як таблетовані форми силденафілу виробляються в 3 дозах (25, 50 і 100 мг), а також зручністю застосування, так як немає необхідності в запиванні водою.

Ключові слова: еректильна дисфункція, інгібітори фосфодіестерази 5-го типу, силденафіл, фармакоєкономіка

І. Э. Кузнецов

Фармакоэкономические аспекты применения ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа для лечения пациентов с эректильной дисфункцией

В работе представлена фармакоэкономическая оценка ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа, широко применяемых в терапии эректильной дисфункции. Отмечено, что до настоящего времени остается открытым вопрос рационального выбора одного из 4 препаратов (силденафила, тадалафила, варденафила или уденафила) для конкретного пациента, поскольку препараты на основе перечисленных активных ингредиентов имеют близкий механизм действия и сопоставимую стоимость. Кроме того, в литературе отсутствуют данные о качественных сравнительных клинических исследованиях, в которых были бы продемонстрированы достоверные различия в эффективности или безопасности существующих на рынке ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа.

Анализ данных по эффективности, безопасности и экономической рациональности применения различных ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа позволил заключить, что по фармакоэкономической оценке лидирующие позиции занимает силденафил, ввиду большей изученности и приверженности пациентов.

Отмечено, что расширению сегмента силденафила на фармацевтическом рынке может способствовать недавно разработанная форма силденафила в виде орального спрея. Дозированный спрей на основе силденафила цитрата имеет ряд преимуществ по сравнению с твердыми формами для орального применения. Более высокая системная экспозиция препарата в виде орального спрея позволяет достигать сравнимых терапевтических эффектов при приеме более низких доз и, соответственно, имеет лучший профиль безопасности, возможность титрования дозы с шагом 10 мг, тогда как таблетированные формы силденафила производятся в 3 дозировках (25, 50 и 100 мг), а также удобство применения, поскольку не требуется запивание водой.

Ключевые слова: эректильная дисфункция, ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа, силденафил, фармакоэкономика

I. E. Kuznetsov

Pharmacoeconomic aspects of the use of phosphodiesterase type 5 inhibitors in patients with erectile dysfunction

The paper presents a pharmacoeconomic evaluation of the most widely used phosphodiesterase type 5 inhibitors in the treatment of patients with the erectile dysfunction. It was noted that rational choice of one of the 4 drugs (sildenafil, tadalafil, vardenafil or udenafil) for individual patient remains a question until now, since preparations based on these active ingredients possess similar mechanism of action and a comparable cost. Furthermore, in the literature is absent the data of evidence-based comparative clinical trials demonstrating statistically significant differences in the effectiveness or safety of phosphodiesterase type 5 inhibitors presenting in the pharmaceutical market. Evaluation of efficacy, safety and economic issues of various phosphodiesterase type 5 inhibitors application in clinical practice allowed to conclude that leading position, in terms of pharmacoeconomic rationality, occupies sildenafil being well-studied and possessing greater patient's compliance.

It was noted potential possibility of a newly developed form of sildenafil oral spray to expand the segment of sildenafil preparations in the pharmaceutical market. The sildenafil citrate oral spray has a number of advantages over solid dosage forms for oral administration: higher systemic exposure of spray form enables to reach a comparable therapeutic effects at lower dose and consequently provides better safety profile; the possibility of dose titration with 10 mg steps, while tablet form of sildenafil citrate are produced in 3 fixed doses (25, 50 and 100 mg); and the convenience of application (no need to drink water taking the medicine).

Key words: erectile dysfunction, phosphodiesterase type 5 inhibitors, sildenafil, pharmacoeconomic

Надійшла: 25.05.2015 р.

Контактна особа: Кузнєцов І. Е., Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 35 81.

Енергетика й досвід вищої школи – «вічний двигун» фармакології (роздуми про традиційну нараду завідувачів профільних кафедр навчальних закладів МОЗ України)

22 квітня 2015 року на базі Національного медичного університету імені О. О. Богомольця відбулася, з поглядом пересічного викладача медичного вузу, чергова нарада завідувачів кафедр фармакології медичних університетів, академій Міністерства охорони здоров'я України, яку щорічно проводить головна з навчально-медичної роботи кафедра фармакології.

Але це зібрання було незвичайне – сорокове за період проведення таких нарад. Викладачі необхідного кожному лікареві предмету, сама прагматична матерія, яка має бути позбавлена емоційних орнаментів, а тримається виключно на абсолютно точних наукових фактах – хто вони ці особистості? Це викладачі кафедр фармакології, які доносять «тайни» лікарських засобів до студентів, щоб в майбутньому надати ефективну фармакотерапевтичну допомогу хворому. Закохані в свій жереб, у свою педагогічну райдугу, у тяжінні до невпинного пізнання дивовижного світу ліків, вони – лицарі медичних знань. Лицарі тому, що фармаколог обирає камертоном життя досить аскетичний спосіб, поза особистих стосунків з пацієнтами. То це, як хочете, вибір чистого служіння науці без гонитви за гонорами. Дивіденди тут зовсім інші – фармакологи лікують людство.

Саме таким виглядав колективний портрет фармакологічного педагогічного загалу України, який уже сорокового разу ініціював та зібрав відомий метр у таких вимірах призначення, завідувач кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, член-кореспондент НАН і НАМН України, професор Іван Сергійович Чекман. Він згадав першу нараду завідувачів кафедр фармакології, що відбулася в 1974 році, на якій було розроблено та затверджено про-

граму з фармакології. Активно виступали й вносили пропозиції з удосконалення програми відомі педагоги-учені, професори Ф. П. Трінус, В. М. Баскакова (м. Сімферополь), Г. Є. Батрак (м. Дніпропетровськ), Ю. І. Іванов (м. Чернівці), С. М. Кіт (м. Івано-Франківськ), І. В. Комісаров (м. Донецьк), Я. С. Максимович (м. Одеса), Р. В. Рудий (м. Львів), М. П. Скакун (м. Тернопіль), доцент В. І. Ліненко (м. Запоріжжя).

Програма наради, а скоріше, вільного обміну думками у процесі викладання предмета, була цікавою й насиченою. З дебютною доповіддю «Науково-методичні основи викладання фармакології студентам фармацевтичного факультету (заочна форма навчання)» виступив завідувач кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету професор С. Ю. Штриголь. Необхідність обговорення та прийняття науково обґрунтованого рішення з цього питання зумовлено тим, що в багатьох медичних вузах відкриті фармацевтичні факультети (заочна форма навчання).

Не меншу зацікавленість викликала доповідь завідувача кафедри фармакології, патологічної фізіології, клінічної фармакології та клінічної фармації, ректора Київського медичного університету УАНМ, професора В. А. Туманова на тему: «Впровадження в навчальний процес з фармакології положень «Закону про освіту». Доповідач, як учасник багатьох нарад з цього питання, які проводило Міністерство освіти та науки України, а також Міністерство охорони здоров'я України, детально розповів про шляхи реалізації «Закону про освіту», його значення для вищої медичної освіти та викладання фармакології.

Щорічно на нарадах завідувачів кафедр фармакології аналізуються

результати державної атестації «Крок-1» з даного предмета. Тому великий інтерес викликала доповідь доцента кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця доцента О. В. Шумейко на тему: «Науково-педагогічний аналіз результатів складання державного ліцензійного іспиту «Крок-1» за 2013/2014 навчального року у медичних вузах України студентами медичних факультетів».

На методичних нарадах значну увагу приділяють науково-методичним основам викладання фармакології різних груп лікарських засобів. Були зроблені доповіді щодо науково-методичних основ викладання фармакології препаратів, що впливають на аферентну нервову систему, – професором В. І. Опришком (м. Дніпропетровськ), психотропних препаратів – членом-кореспондентом НАМН України В. Й. Кресюном, професором В. В. Годован (м. Одеса), лікарських засобів, що впливають на функціональний стан нирок і водно-сольовий обмін, – професором І. І. Заморським (м. Чернівці), антибіотиків – професором К. А. Посоховою (м. Тернопіль), гепатопротекторів – професором Л. М. Шереметою (м. Івано-Франківськ), медикаментів, що впливають на мозковий кровообіг, – професором І. Ф. Беленічевим (м. Запоріжжя).

Зацікавленість учасників наради викликала лекція завідувача кафедри фармакології та медичної рецептури Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова професора Н. І. Волощук: «Науково-методичні основи викладання загальної фармакології з урахуванням сучасних

досягнень біологічної та медичної науки».

На таких зібраннях завідувачі кафедр приділяють увагу поліпшенню викладання лекцій шляхом їхнього рецензування. На цій нараді проаналізовано рецензії на дві лекції: завідувача кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету професора І. І. Заморського на тему: «Фармакологія синтетичних протимікробних препаратів» та доцента кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця Р. С. Довганя на тему: «Фармакологія лікарських засобів, що впливають на слизову оболонку ротової порожнини, пульпу та тверді тканини зуба».

Викладачі кафедр фармакології приділяють увагу підготовці та виданню підручників, посібників для студентів. Підготовку нових книг для студентства висвітлила в аналітичному виступі професор кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця Н. О. Горчакова.

Учасники наради прийняли рішення щодо організації щорічних читань, присвячених пам'яті академіка О. І. Черкеса в травні місяці.

Невимушеній тональності наради сприяв стиль її модератора професора І. С. Чекмана.

Відомий парадоксальний вислів: «Знання – сила, всезнання – слабкість». Але щодо фармакології, то саме педагогічне всезнання – її рушійна сила. Це довела зустріч прибічників обраної дисципліни весною 2015 року.

Ю. Г. Віленський,
кандидат медичних наук

За сторінками журналу «WHO Pharmaceuticals Newsletter»

Агомелатин

Риск развития токсического поражения печени

Європа. Европейское агентство по лекарственным средствам (ЕМА) рекомендовало принять дополнительные меры для агомелатина (Valdoxan® и Thymanax®), чтобы свести к минимуму риск токсического повреждения печени. Агомелатин используется для лечения большого депрессивного расстройства у взрослых. Информационный буклет будет предоставляться всем пациентам, принимающим Вальдоксан, для того, чтобы они знали о риске для печени и о признаках нарушения функции печени. Этот буклет содержит также информацию о важности мониторинга функции печени. Предупреждения в информации о препарате будет усилено для того, чтобы подчеркнуть необходимость оценки функции печени у пациентов как до начала, так и регулярно во время лечения.

Медицинские работники должны следовать следующим рекомендациям:

- У каждого пациента следует проводить исследования функции печени, и лечение не следует начинать у пациентов с трансаминазой, превосходящей в 3 раза верхний предел нормы.

- Необходимо регулярно контролировать функцию печени во время лечения, через 3, 6, 12 и 24 недели, а также по клиническим показаниям.

- Лечение должно быть немедленно прекращено, если увеличение сывороточных трансаминаз в 3 раза превышает верхнюю границу нормы, или если у пациентов наблюдаются симптомы или признаки потенциального повреждения печени.

- Следует проинформировать пациентов о симптомах потенциального повреждения печени, важности мониторинга функции печени и рекомендовать немедленно прекратить прием агомелатина, срочно обратиться за медицинской консультацией, если появляются такие симптомы.

Источник: Press release, EMA, 26 September 2014 (www.ema.europa.eu)

Азитромицин

Сыпь с эозинофилией и системными симптомами

Канада. Министерство здравоохранения Канады сообщило, что был выполнен обзор по безопасности с целью оценки возможной связи между антибиотиком азитромицином (Zithromax®, Zmax® и его генериков) и симптомокомплексом, называемым DRESS, которое расшифровывается как лекарственная реакция/сыпь с эозинофилией и системными симптомами. Этот обзор был инициирован в связи с поступившей в Министерство здравоохранения Канады информацией о побочной реакции.

Азитромицин принадлежит к группе антибиотиков – макролидов и представлен в виде раствора для питья, таблеток и инъекционной формы.

DRESS описывает группу редких, но серьезных и потенциально опасных для жизни побочных реакций на лекарства. Эти реакции обычно возникают от двух недель до двух месяцев после начала лечения. У пациентов могут развиваться такие симптомы, как лихорадка, тяжелая кожная сыпь с опухшим лицом или шелушение кожи на больших участках тела. Могут также произойти аномальные изменения в клетках крови или функции органов, таких как печень и почки. Причины возникновения DRESS при приеме некоторых препаратов неизвестны.

Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о том, что DRESS может произойти при использовании азитромицина. Кроме того, DRESS – известный риск для подобного антибиотика, – кларитромицина. Другие серьезные,

редкие аллергические кожные реакции, такие как токсический эпидермальный некролиз (TEN) и синдром Стивенса-Джонсона (SJS) описаны в инструкции по применению азитромицина. Общие черты между всеми тремя состояниями могут сделать затруднительной раннюю диагностику. Обновленная информация по назначению азитромицина включает возможный риск развития DRESS.

Важно, чтобы медицинские сотрудники и пациенты были информированы о возможности возникновения этих редких серьезных побочных реакций, а также знали меры для раннего выявления DRESS в связи с тем, что его лечение отличается от лечения TEN и SJS.

Источник: Advisories, Warnings and Recalls, Health Canada, 21 October 2014 (www.hc-sc.gc.ca)

Клопидогрель

Связь с приобретенной гемофилией

Египет. Египетский центр по фармаконадзору (EPVC) предупредил о связи клопидогреля с развитием гемофилии.

Клопидогрель – антиагрегантный препарат. Он показан для профилактики атеротромбоза при инфаркте миокарда и ишемическом инсульте, установленном заболевании периферических артерий, остром коронарном синдроме, включающим инфаркт миокарда без элевации сегмента ST, нестабильную стенокардию и острый инфаркт миокарда с элевацией сегмента ST.

Клопидогрель также назначается в сочетании с аспирином для профилактики атеротромботических и тромбоэмболических осложнений при фибрилляции предсердий у пациентов, которым нельзя проводить лечение антагонистами витамина К.

EPVC сделал следующие рекомендации:

- Приобретенная гемофилия должна быть быстро распознана, чтобы свести к минимуму время, когда пациент подвергается риску развития кровотечения и во избежание массивного кровотечения.
- Следует рассматривать развитие гемофилии, если подтверждается удлинение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) с или без кровотечения.
- Лечение пациентов с подтвержденным диагнозом приобретенной гемофилии должно осуществляться соответствующими специалистами, клопидогрель следует прекратить, а инвазивные процедуры – избегать.

Источник: Egyptian Pharmaceutical Vigilance Center (EPVC), Newsletter. November 2014, Volume 5, Issue 11, (See WHO Pharmaceuticals Newsletter No. 1, 2014 for information on Risk of acquired haemophilia in the UK).

Колистин (полимиксины)

Рекомендации для безопасного применения препарата у пациентов с тяжелыми инфекциями, устойчивыми к стандартным антибиотикам

Европа. ЕМА была рассмотрена безопасность и эффективность антибиотиков, содержащих колистин или колистиметат натрия (известные как полимиксины), было рекомендовано внести изменения в их информацию по применению для обеспечения безопасного использования при лечении тяжелых инфекций, которые устойчивы к стандартным антибиотикам.

Препараты на основе полимиксина были доступны с начала 1960-х годов, но их использование быстро сократилось из-за наличия антибиотиков с меньшим количеством возможных побочных эффектов. Отчасти из-за такого ограниченного использования, колистиметат натрия сохранил активность в отношении ряда бактерий, которые стали устойчивыми к обычно используемым антибиотикам. Поэтому в последние годы опять вернулись к использованию полимиксинов. Однако появились опасения, что информация по применению, касающаяся, в частности, дозировки и фармакокинетики препаратов, требует обновления. В связи с этим Европейская комиссия предложила ЕМА рассмотреть имеющиеся

данные и сделать рекомендации о том, следует ли изменить маркетинговые решения и информацию по применению этих препаратов.

Агентство проанализировало имеющиеся клинические, фармакологические и фармакокинетические данные и считает, что на данном этапе информацию о препарате следует обновить на всей территории ЕС с учетом того, что в настоящее время известно.

– Дозы должны всегда быть выражены в МЕ колистиметата натрия. Для решения вопроса, связанного с тем, что активность колистиметата натрия и колистина в ЕС и в других регионах, таких как США и Австралия выражаются по-разному, было рекомендовано в информацию о препарате включить следующую таблицу:

Коллистиметат натрия, МЕ	Коллистиметат натрия, мг	Активность, базирующаяся на колистине (CBA), мг
12 500	1	0,4
150 000	12	5,0
1 000 000	80	34,0
4 500 000	360	150,0
9 000 000	720	300,0

- Для лечения серьезных инфекций новорожденных, вызванных аэробными грамотрицательными микроорганизмами, когда возможности лечения пациентов ограничены. Рассматривается возможность совместного назначения другого антибактериального препарата.
- Дозировка устанавливается в соответствии с руководящими принципами лечения. Так как доступно ограниченное количество данных, рекомендуемая суточная доза для взрослых составляет 9 000 000 МЕ в 2 или 3 приема в виде медленной внутривенной инфузии; больным в критическом состоянии назначают нагрузочную дозу 9 000 000 МЕ. Дозы должны быть уменьшены в соответствии с клиренсом креатинина у пациентов с почечной недостаточностью. У детей предложенная суточная доза составляет от 75 000 до 150 000 МЕ/кг в 3 приема.
- При внутривенном введении колистиметат натрия в значительной степени не проникает через гематоэнцефалический барьер. В случае необходимости рекомендуется вводить взрослым дозы 125 000 МЕ при внутрижелудочковом введении и не больше этой дозы – при интратекальном введении.
- Использование внутривенного колистиметата натрия вместе с другими препаратами, которые потенциально нефротоксичны или нейротоксичны, следует проводить с большой осторожностью. Ингаляционный путь введения колистиметата натрия может применяться для лечения хронических легочных инфекций, вызванных синегнойной палочкой, у взрослых и детей с муковисцидозом. Рекомендуемая суточная доза для взрослых составляет от 1 до 2 млн МЕ 2–3 раза в 1 день, а у детей – от 0,5 до 1 млн МЕ 2 раза в 1 день и регулируется в соответствии с тяжестью состояния и реакции.

В настоящее время проводится дальнейшее изучение качества и эффективности колистиметата натрия, что может привести к последующим изменениям информации о нем.

Источник: Press release, EMA, 24 October 2014 (www.ema.europa.eu)

Иммуноглобулины

Риск образования тромбов

Канада. Министерство здравоохранения Канады сообщило о проведенном обзоре по безопасности негипериммунных иммуноглобулинов (далее – иммуноглобулины) с целью проверки информации, представленной в «Canadian product monograph», о риске тромбообразования. Выполнение обзора было вызвано теку-

щей оценкой информации об этих препаратах, побочных явлениях, предоставленной производителями, двумя научными медицинскими публикациями, а также регулируемыми действиями со стороны FDA (США).

Иммуноглобулины являются большой и разнообразной группой препаратов, получаемых из крови человека, и их использование в клинических условиях широко варьирует от региона к региону. Было установлено, что имеется достаточно оснований для обновления информации об иммуноглобулинах.

Министерством здравоохранения Канады были предприняты следующие действия:

- Обновлено информация «Canadian product monograph», касающаяся всех иммуноглобулинов. Были обновлены разделы, касающиеся предупреждения и мер предосторожности в связи с риском развития тромбоза. Описан тип событий, которые могут произойти, а также факторы риска.
- Продолжается мониторинг случаев тромбоза при применении всех иммуноглобулинов с особым акцентом на лекарственные формы для внутримышечного и подкожного введения.

Источник: *Advisories, Warnings and Recalls, Health Canada, 9 October 2014 (www.hc-sc.gc.ca)*

Понатиниб

Риск образования тромбов и закупорки артерий

Европа. ЕМА проанализировала пользу и риск понатиниба (Iclusig®), препарата, используемого для лечения лейкемии, и рекомендовала усилить предупреждение в информации о препарате, направленной на минимизацию риска образования тромбов и тромбоза артерий.

Понатиниб разрешен для применения у пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) и острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), которые не могут принимать или переносить некоторые другие препараты этого же класса (известные как «ингибиторы тирозинкиназы»).

Баланс пользы и риска понатиниба остается положительным во всех разрешенных показаниях, а начальная доза остается 45 мг в сутки.

Информация о препарате будет обновляться с акцентом на риск понатиниба. Специалистам здравоохранения будет предоставляться обновленная информация по снижению доз понатиниба у пациентов с хронической формой ХМЛ, которые хорошо реагируют на лечение, и которые могут быть особенно подвержены риску закупорки кровеносных сосудов. Лечение понатинибом должно быть прекращено, если в течение трех месяцев лечения не получен ответ на лечение. Необходимо следить за пациентами с высоким артериальным давлением или признаками заболеваний сердца.

Медицинские работники должны следовать следующим рекомендациям:

- До начала терапии понатинибом следует оценить сердечно-сосудистый статус пациента и регулярно его контролировать в процессе лечения.
- Лечение понатинибом следует остановить, если через три месяца не наблюдается полный гематологический ответ. Изменение дозы или прерывание лечения (временной или постоянной) следует рассматривать с точки зрения ответа на токсичность.
- Если используется сниженная доза понатиниба, то осуществляется наблюдение за пациентами для поддержания терапевтического ответа.

При принятии решения о снижении дозирования следует принимать во внимание целый ряд факторов, в том числе сердечно-сосудистый риск, побочные эффекты, а также время до цитогенетического ответа.

Источник: *Press release, EMA, 24 October 2014 (www.ema.europa.eu)*

Составители: член-корреспондент НАМН Украины Т. Бухтиарова, кандидат медицинских наук Т. Ефимцева

До ювілею члена-кореспондента НАМН України, заслуженого діяча науки і техніки України, професора Юрія Івановича Губського



1 жовтня 2015 року виповнилося 70 років від дня народження відомого українського вченого, члена-кореспондента НАМН України, заслуженого діяча науки і техніки України, доктора медичних наук, професора Юрія Івановича Губського.

Юрій Іванович Губський народився 1 жовтня 1945 року в місті Харкові. Після закінчення в 1969 році лікувального факультету Київського медичного інституту (нині Національний медичний університет імені О. О. Богомольця) навчався в аспірантурі кафедри біохімії КМІ (1969–1972 рр.). У 1972–1987 роках – науково-педагогічна робота в КМІ (асистент, доцент, професор, завідувач Центральної НДЛ). Доктор медичних наук – з 1984 року, професор – з 1987 року.

У 1987–1991 роках професор Ю. І. Губський – заступник директора з наукової роботи Київського НДІ фармакології та токсикології (КНДІФТ) МОЗ УРСР; у 1991–1992 роках – в. о. директора КНДІФТ (нині Інститут фармакології та токсикології НАМН України). З 1988 року – завідувач лабораторії та відділу біохімічної фармакології

(з 1993 р.) Інституту фармакології та токсикології НАМН України, де він заснував відділ біохімічної фармакології та разом зі своїми учнями (доктором медичних наук Н. В. Літвіною, доктором біологічних наук Є. Л. Левицьким та ін.) розпочав розробку фундаментальних питань фармакологічної корекції пошкодження клітин за дії токсичних сполук фосфорорганічного та хлорорганічного походження та застосування фізіологічно активних сполук антиоксидантної дії.

Один із засновників та перший заступник Голови Фармакологічного Комітету МОЗ України (1991–1993 рр.). Головний вчений секретар та один із організаторів (під керівництвом академіка О. Ф. Возанова) Академії медичних наук України (1993–1997 рр.).

У 1992–2000 роках Ю. І. Губський – на науково-організаційній та адміністративній роботі: начальник управління та атестаційного відділу медичних, біологічних, хімічних та аграрних наук Вищої атестаційної комісії (ВАК) при Кабінеті Міністрів України. Почесне звання «Заслужений діяч науки і техніки України» присвоєне в 1997 році

«за заслуги у становленні національної системи атестації наукових і науково-педагогічних кадрів вищої кваліфікації, багаторічну наукову діяльність». Незаперечним визнанням наукових заслуг Ю. І. Губського є його обрання в 1994 році членом-кореспондентом АМН України.

Завідувач кафедри біоорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (1997–2010 рр.). Один із засновників під керівництвом академіка Є. Г. Гончарука та академіка НАМН України В. Ф. Москаленка фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Ю. І. Губський є автором перших україномовних підручників для студентів вищих медичних та фармацевтичних навчальних закладів III–IV рівнів акредитації, а саме: «Біологічна хімія» (2000 р., 2008 р., 2011 р.), «Біоорганічна хімія» (2004 р.) та навчальних програм для вищих навчальних закладів держави з цих дисциплін. З 2008 року – директор створеного за його ініціативою Інституту паліативної та хоспісної медицини МОЗ України, з 2010 року – завідувач кафедри паліативної та хоспісної медицини Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика.

Член-кореспондент НАМН України Ю. І. Губський є автором близько 650 наукових робіт, у тому числі широко відомих наукових монографій та довідників, зокрема: «Коррекция химического поражения печени» (1989 р.); «Химические катастрофы и экология» (1993 р.); «Лекарственные средства в психофармакологии» (1997 р.), «Фармакотерапия в паллиативной та хоспісній медицині» (2012 р.), «Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз»

(2015 р.). Автор 51 патенту та авторського свідоцтва на нові фізіологічно активні сполуки та лікарські засоби з антидотною, антиоксидантною та протипухлинною дією.

Під його науковим керівництвом підготовлено 19 докторських та 11 кандидатських дисертацій з біохімії, фармакології, токсикології та клінічних дисциплін. В останні роки Ю. І. Губський вивчає та розвиває питання використання анагетиків у паліативній та хоспісній медицині, створення формулярів лікарських засобів для застосування в паліативній медицині, проводить розробку настанов та клінічних протоколів контролю больового синдрому в онкології як науково-методичну та нормативно-правову базу фармакотерапії та надання медичної паліативної допомоги населенню в Україні.

Член-кореспондент НАМН України Ю. І. Губський очолює створену за його ініціативою Проблемну експертну комісію МОЗ та НАМН України «Біологічна та медична хімія», є головним редактором науково-практичного журналу «Медична та клінічна хімія», членом редакційних колегій «Фармацевтичного журналу», «Українського біохімічного журналу».

Свій ювілей Юрій Іванович зустрічає в розквіті творчих сил та громадської активності. Редакційна колегія журналу «Фармакологія та лікарська токсикологія», колектив Інституту фармакології та токсикології НАМН України, ВГО «Асоціація фармакологів України» від усього серця вітають члена-кореспондента НАМН України Юрія Івановича Губського з його ювілеєм, бажають йому міцного здоров'я та подальших творчих успіхів у його багатогранній науково-педагогічній та громадській діяльності.

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

- Бухтиярова Т. А. Инновационные лекарственные средства, утвержденные FDA в 2011–2014 годы (аналитический обзор)3
- Мохорт Н. А., Геращенко И. В., Притула Т. П. Фармакологические эффекты токолитиков при преждевременных родах 17

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

- Громов Л. А., Черноштан К. А., Мовчан Е. Д., Тарнавская Л. С., Ярош А. К. Доминирующее участие полушарий головного мозга в антидепрессивных эффектах флуоксетина и пирлиндолла27
- Мироненко С. И., Пиняжко О. Р., Лесик Р. Б. Скрининг соединений с противосудорожной активностью среди производных 4-тиазолидинона.....33

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

- Дрынть Д. О., Мельник М. И., Кизуб И. В., Жолос А. В., Соловьев А. И. Функциональная экспрессия и роль TRPV4-каналов в регуляции тонуса легочных артерий крысы39
- Иванов Л. В., Картель Н. Т., Ляпунов А. Н., Нардид О. А., Черкашина Я. О., Деримедведь Л. В., Кирилюк И. А. Изучение механизмов цитотоксичности ряда гидрофильных полочесамеров методом спиновых зондов.....46
- Клеванова В. С., Тржецинский С. Д. Антидиабетические свойства черноголовника кровохлебкового в условиях высокожировой диеты у крыс59
- Мешкова Н. А., Мищенко О. В., Захаренко В. В., Шарыкина Н. И. Цитостатическое действие α_1 -адреноблокаторов – производных хиназолина65
- Серединская Н. Н., Ядловский О. Е., Бершова Т. А., Омеляненко З. П., Хоменко В. С., Киричек Л. М. Оценка интегральных показателей жизнедеятельности у крыс при комбинированном применении нестероидных противовоспалительных средств и антагониста кальция на модели ревматоидного артрита, сочетанного с артериальной гипертензией69
- Симонов П. В. Исследование острой токсичности наночастиц меди при внутрижелудочном введении мышам.....79
- Товчига О. В., Горбач Т. В., Штрыголь С. Ю., Степанова С. И. Влияние препаратов сняти обыкновенной (*Aegorodium podagraria* L.) на показатели липидного обмена у крыс на фоне однократного введения этанола.....87
- Шевчук О. О. Влияние углеродного энтеросорбента и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз, нарушенный на фоне применения алкилирующего цитостатика мелфалана97
- Юрченко А. И., Степанюк Г. И., Коваленко С. И., Шабельник К. П., Альчук А. И. Сравнительная оценка влияния 4- [4-оксо- (4Н) -хиназолин-3-ил] бензойной кислоты (соединения ПК-66) и диклофенака натрия на течение адьювантного артрита у крыс..... 103

ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА, ФАРМАКОЭКОНОМИКИ

- Кузнецов И. Э. Фармакоэкономические аспекты применения ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа для лечения пациентов с эректильной дисфункцией..... 108

СОБЫТИЯ

Виленский Ю. Энергетика и опыт высшей школы – «вечный двигатель» фармакологии (розмышления о традиционном совещании заведующих профильными кафедрами высших учебных заведений МЗ Украины)..... 117

**ИНФОРМАЦИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ** 119

ЛИЧНОСТИ

К юбилею члена-корреспондента НАМН Украины,
заслуженного деятеля науки и техники Украины,
профессора Юрия Ивановича Губского 123

CONTENT

REVIEWS

<i>Bukhtiarova T. A.</i> Innovative drugs, approval FDA in 2011–2014 (analytical overview).....	3
<i>Mokhort N. A., Herashchenko I. V., Prytula T. P.</i> Pharmacological effects of tocolytic drugs in preterm parturition	17

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

<i>Gromov L. O., Chernoshtan K. O., Movchan O. D., Tarnavska L S., Yarosh O. K.</i> The dominant participation of the cerebral hemispheres in the antidepressant effect of fluoxetine and pirlindole.....	27
<i>Myronenko S. I., Pinyazhko O. R., Lesyk R. B.</i> Screening of compounds with anticonvulsant activity among 4-thiazolidinone derivatives.....	33

WORKING OUT OF THE NEW METHODOLOGICAL WAYS

<i>Dryn D., Melnyk M., Kizub I., Zholos A., Soloviev A.</i> Functional expression and role of TRPV4-channels in the regulation of the rat pulmonary artery vascular tone	39
<i>Ivanov L. V., Kartel M. T., Lyapunov A. N., Nardid O. A., Cherkashina Ya. O., Derimedvid L. V., Kirilyuk I. A.</i> Study of cytotoxic mechanisms of a number of hydrophilic poloxamers by spin probe	46
<i>Klevanova V. S., Trzhetsynskyy S. D.</i> Antidiabetic properties of blood burnet in rats under high-fat diet	59
<i>Meshkova N., Mischenko O., Zakharenko V., Sharykina N.</i> Cytostatic activity of quinazoline-derived α_1 -adrenoceptor antagonists.....	65
<i>Seredinska N. M., Yadlovskyy O. E., Bershova T. A., Omelyanenko Z. P., Khomenko V. S., Kirichok L. M.</i> The evaluation of rat's integral indices after combined use of NSAIDs and calcium antagonist at the rheumatoid arthritis model in conjunction with arterial hypertension	69
<i>Simonov P. V.</i> Acute toxicity testing of the copper nanoparticles under oral administration to mice	79
<i>Tovchiga O. V., Gorbach T. V., Shtrygol' S. Yu., Stepanova S. I.</i> The influence of goutweed (<i>Aegopodium podagraria</i> L.) preparations on the lipid metabolism in rats after a single dose of ethanol	87
<i>Shevchuk O. O.</i> The influence of carbonic enterosorbent and granulocyte colony stimulating factor on prooxidant-antioxidant homeostasis impaired by alkylating cytostatic melphalan	97
<i>Yurchenko A. I., Stepaniuk G. I., Kovalenko S. I., Shabelnik K. P., Alchuk O. I.</i> Comparative evaluation of the impact of 4- [4-oxo (4H) -quinazoline-3-yl] benzoic acid (substance PC-66) and diclofenac sodium in the course of adjuvant arthritis in rats.....	103

ISSUES OF PHARMACY, PHARMACEUTICAL MARKET, PHARMACOECONOMICS

Kuznetsov I. E. Pharmacoeconomic aspects of the use of phosphodiesterase
type 5 inhibitors in patients with erectile dysfunction 108

EVENTS 117

INFORMATION FOR DRUG`S SAFE USE 119

PERSONALITY 123