
СПІВЗАСНОВНИКИ

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

Всеукраїнська громадська організація «Асоціація фармакологів України»

ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 2(53)/2017

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Вринчану Н. О. Кандидоз. Проблеми та перспективи антифунгальної терапії (частина II) 3

Соловьев А. И. Миогенная автоматия и базальный тонус сосудов (клеточные осцилляторы как фармакологические мишени в терапии сосудистых заболеваний) 18

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Ларіонов В. Б., Редер А. С., Головенко М. Я., Валіводзь І. П. Протиепілептична дія пропексазепаму при використанні моделі максимального електрошоку 47

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Зупанець І. А., Шебеко С. К., Отрішко І. А. Вивчення впливу препарату «Капікор» на перебіг ендотеліальної дисфункції в щурів з церебральною ішемією 54

Калько К. О., Дроговоз С. М. Циркадіанна залежність гепатопротекторної активності Антралю на моделі гострого парацетамолового гепатиту в щурів 62

Мархонь Н. О., Жилук В. І., Левих А. Е., Мамчур В. Й. Особливості змін ліпідограми крові щурів за метаболічного синдрому та фармакотерапії екстрактом плодів горобини звичайної та ресвератролом 69

Хромов О. С., Гула Н. С., Добреля Н. В., Соловйов А. І. Вплив цукрового діабету на розвиток гіпоксичної легеневої вазоконстрикції 76

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Крайдашенко О. В., Бєленічев І. Ф., Стець Р. В., Косогор Ю. А., Каптур Л. М., Аніщенко М. А. Правове забезпечення фармаконагляду в Україні та шляхи його вдосконалення 86

<i>Мамчур В. И., Налетов С. В., Носивец Д. С., Гурьянов В. Г., Паламарчук В. И., Оголь А. Ж. Безопасность симптоматического лечения пациентов с болевым синдромом различного генеза комбинированным болеутоляющим средством «Фаниган».....</i>	92
<i>Машейко А. М., Макаренко О. В., Маврутенков В. В. Експертна оцінка системної антибактеріальної хіміотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту в дітей.....</i>	99

ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ, ФАРМАКОЕКОНОМІКИ

<i>Кривов'яз О. В., Макаренко О. В. Аналіз доступності лікарських засобів для лікування первинної відкритокутової глаукоми</i>	107
--	-----

CONTENT	112
----------------------	-----

Н. О. Вринчану

Кандидоз. Проблеми та перспективи антифунгальної терапії (частина II)

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

Ключові слова: гриби, кандидози, мікози, антифунгальні засоби

Кількість антифунгальних препаратів, що застосовуються в клінічній практиці, постійно збільшується та налічує сьогодні десятки системних та місцевих препаратів [1, 2]. Сучасні протигрибкові засоби відрізняються за хімічною структурою, механізмом дії, способом застосування тощо. За хімічною будовою антимікотики поділяють на декілька груп: гризани, полієнімакроліди, поліпептиди-кандини, похідні піримідину та азолів, аліламіни, тіокарбамати, морфоліни, похідні гідроксипіридону.

Гризани представлені одним антимікотиком – гризеофульвіном. Основне застосування гризеофульвіну – мікози, зумовлені дерматоміцетами. Препарат не активний відносно грибів роду *Candida*. При тривалому застосуванні можливе формування резистентних штамів *T. rubrum*.

Полієнові антифунгальні засоби включають амфотерицин В (AmpB), натаміцин і ністатин [2]. Полієни взаємодіють з ергостеролом клітинної стінки грибів з утворенням пор, що призводить до порушення її проникності. AmpB також здатен зв'язуватись з холестеролом клітинної мембрани людини, що зумовлює побічні ефекти лікарського засобу [3]. З метою зменшення проявів небажаних реакцій було розроблено ліпосомальний AmpB – Амбізом, ліпідний комплекс AmpB (ABLC; Abelcet) та колоїдну дисперсію AmpB (ABCD; Amphotec, Amphocil). Перевагою зазначених препаратів є менша токсичність, пролонгована фармакокінетика, покращена біодоступність. В Україні зареєстровано AmpB у формі ліофілізату для розчину для

інфузій та ліпосомальний AmpB у формі суспензії для розчину для інфузій (Амфоліп). З 1990 року проводяться дослідження щодо доцільності застосування аерозольної форми AmpB та ліпосомального AmpB (L-AmpB) для профілактики інвазивного аспергильозу, зокрема, у пацієнтів з індукованою хіміотерапевтичними засобами нейтропенією [4].

У 1954 році виявлена антифунгальна активність ністатину, отриманого з актиноміцету *Streptomyces noursei*. Спектр дії препарату включає гриби родів *Candida* та *Aspergillus*. Препарат рекомендовано до медичного застосування в Україні, випускається в наступних лікарських формах: таблетки, вкриті плівковою оболонкою, мазь, супозиторії. До полієнових антибіотиків відноситься й леворин, отриманий з *Actinomyces levoris*. Препарат активний щодо дріжджоподібних грибів та деяких найпростіших (*Trichomonas vaginalis*). В Україні сьогодні препарат відсутній у Переліку лікарських засобів, дозволених для медичного застосування [5, 6].

Представником полієнів-макролідів є натаміцин (пімафуцин), який виявляє широкий спектр антикандидозної дії, є ефективним у разі кандидозо-трихомонадної інфекції [1]. В Україні зареєстровано натаміцин у наступних лікарських формах: таблетки кишковорозчинні, супозиторії вагінальні, крем [5–7].

У разі оцінки чутливості грибів до полієнів встановлено, що більшість видів є чутливими до цієї групи препаратів, хоча деяким грибам притаманна природна нечутливість до їхньої дії (*C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*). Оскільки мішенню дії полієнів є структурні елементи клітини грибів,

формування стійкості може бути наслідком складних генетичних процесів, які призводять до зміни біосинтезу компонентів мембрани. Вірогідність таких подій відносно незначна, у зв'язку з чим спостерігається низька частота резистентності до полієнів. Поява полієн-резистентних мікроорганізмів у більшості випадків зумовлена мутацією гена *ERG3*, відповідального за біосинтез ергостеролу [8].

Найчисельнішою групою синтетичних засобів, що застосовуються при системних та місцевих мікотичних ураженнях, є похідні імідазолу (міконазол, кетоконазол) і триазолу (флуконазол, ітраконазол, вориконазол, позаконазол) [9]. Механізм їхньої антифунгальної дії – інгібіція стерол-14 α -деметилази (*CYP51*), що призводить до накопичення в клітині гриба токсичних 14- α -метилстеролів, які у високих концентраціях шляхом перекисного окиснення та інших процесів викликають пошкодження мембрани та загибель клітин [10]. Станом на 1 лютого 2017 року в Державному реєстрі лікарських засобів України препарати, що містять активну речовину «кетоконазол» у таблетованій лікарській формі, відсутні, зареєстровано супозиторії, песарії, крем для зовнішнього застосування та шампунь [5]. Ітраконазол зареєстровано в Україні в наступних лікарських формах: капсули, таблетки, вкриті оболонкою, розчин оральний, вориконазол – у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою та порошку для розчину для інфузій. Позаконазол зареєстровано в Україні у формі оральної суспензії [5, 6].

Не дивлячись на достатню ефективність цієї групи антифунгальних препаратів, натеper виявлені резистентні до їхньої дії штами мікроорганізмів. Резистентність грибів до азолів часто зумовлена гіперактивацією ефлюксних pomp, що супроводжується зменшенням вмісту препарату в клітині грибів. Активація систем виведення часто асоціюється зі змінами в структурі мембрани та пов'язана з мутацією генів *Cg CDR1*, *Cd CDR1*, *Cd MDR1* (у *Candida spp.*) та генів *MDR1*, *MDR4*, *MDR3* (у *Aspergillus spp.*) [8]. Резистентність гри-

бів може бути також результатом точкових мутацій, що призводить до нуклеотидних замін у генах, кодуєючих мішені дії антимікотика, зокрема, гена *ERG11p* у *C. krusei*. Наслідком таких порушень є відсутність інгібування синтезу ергостеролу в терапевтичних концентраціях [11]. До порушень синтезу ергостеролу призводить також мутація гена *ERG3*. У мутантів за геном *ERG3* виявлено новий шлях біосинтезу ергостеролу [12].

Аліламіни – похідні N-метилнафталіну, лікарські засоби синтетичного походження з фунгістатичною активністю, інгібують ранні етапи біосинтезу ергостеролу. Представниками аліламінів є тербінафін (системне та місцеве застосування), нафтифін та бутенафін (тільки місцеве застосування). Не дивлячись на широкий спектр антифунгальної дії, клінічне значення має їхня дія на збудники дерматомікозів, хоча згідно з даними мета-аналізу Cochrane, тербінафін є ефективним і при кандидозах [13, 14]. Згідно з даними мета-аналізу, який включав більше ніж 4400 досліджень (Rotta I., 2013 p.), препарати групи аліламінів можуть бути рекомендовані для лікування пацієнтів з мікозами шкіри з метою підтримки стійкої ремісії [15]. Нафтифін виявляє також протизапальні властивості, забезпечує ефективність при дерматомікозах, що супроводжуються свербіжем, тріщинами та еритемою. Дослідження щодо формування резистентності грибів у разі тривалого застосування показали відсутність виникнення нафтіфін-резистентних штамів *Trichophyton spp.* [16]. В Україні зареєстровано тербінафін у формі таблеток та спрею нашкірного, нафтифін – у формі крему та розчину нашкірного [5, 6].

Ехінокандини (каспофунгін, мікафунгін, анідулафунгін) – порівняно новий клас антимікотиків, механізм дії яких пов'язаний з порушенням синтезу компоненту клітинної стінки – глюкану за рахунок неконкурентного інгібування β -1,3-D-глюкансинтази [1, 2, 9]. Ехінокандини є ефективними у хворих на інвазивні аспергільози та кандидози стравоходу й порожнини рота. Формуванню набутої резистентності патоген-

них штамів грибів до ехінокандинів може сприяти амінокислотний поліморфізм β -1,3-D-глюкансинтази, виникнення мутацій по Ser 645 у гена Fks1 (*C. albicans*) та Fks1 і Fks2 – у *C. glabrata* [8, 11, 12].

В Україні каспофунгін і мікафунгін зареєстровані в лікарській формі ліофілізату та порошку для розчину для інфузій відповідно, анідулафунгін – у формі порошку для розчину для інфузій.

Група аналогів піримідину представлена одним препаратом – флуцитозином (5-фторцитозин) – фторованим аналогом піримідину.

Флуцитозин синтезований у 1957 році для лікування лейкемії, однак, у зв'язку з відсутністю цитотоксичності в клінічній практиці його за призначенням не застосовували. Антифунгальна активність препарату була встановлена в 1963 році на експериментальних моделях кандидозу. Механізм антимікотичної дії пов'язаний з пригніченням піримідинового метаболізму, необхідного для синтезу РНК та білка клітин грибів. При монотерапії препаратом відмічається швидка поява резистентних штамів збудників. При аналізі резистентності мікроорганізмів до 5-флуцитозину встановлено, що серед грибів *Candida albicans* близько 8 % клінічних ізолятів є стійкими до його дії, серед грибів non-albicans – близько 22 % [17]. Резистентні штами виявлені й серед клінічних штамів *Cryptococcus neoformans* (близько 2 %). Не чутливими до цього препарату є міцеліальні гриби, зокрема, *Aspergillus*, та дерматофіти. В Україні флуцитозин був зареєстрований у формі розчину для інфузій, термін дії реєстраційного посвідчення закінчився 19 січня 2016 року.

Морфоліні представлені аморолфіну гідрохлоридом (Амороллак), який зареєстрований в Україні в лікарській формі лаку для нігтів. Аморолфін – антимікотик широкого спектра дії, з виразною дією (МК $< 2,0$ мкг/мл) відносно дерматофітів, дріжджів і дріжджоподібних грибів, міцеліальних та диморфних (*Coccidioides*, *Histoplasma*, *Sporothrix*) грибів та предстаників родини

Dematiaceae – *Cladosporium*, *Fonsecaea*, *Wangiella* [1, 9].

Таким чином, у клінічній практиці для профілактики та лікування мікозів застосовують препарати різних груп. Але не дивлячись на достатню ефективність антифунгальних засобів, їхнє застосування супроводжується появою та розповсюдженням резистентних штамів мікроорганізмів. З метою оцінки епідеміології та чутливості збудників кандидозної інфекції до сучасних антифунгальних препаратів були проведені декілька досліджень, зокрема «КРІТ» та багатоцентрове дослідження «ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance» (1997–2007 рр.), у якому оцінена активність флуконазолу та вориконазолу (256 882 штамів *Candida spp.*, отриманих з 142 центрів 41 країни світу). Отримані результати показали, що 90,2 % штамів грибів *Candida* виявили чутливість до флуконазолу, однак 13 з 31 виду були помірно чутливими (< 75 % чутливих штамів) або резистентними (у тому числі *C. glabrata* і *C. krusei*). Кількість вориконазол-резистентних штамів склала близько 3 % виділених ізолятів. При оцінці чутливості флуконазол-резистентних штамів встановлено, що близько 30 % штамів *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. rugosa*, *C. lipolytica*, *C. pelliculosa* та деякі інші гриби зберігали чутливість до вориконазолу. У дослідженні відмічено підвищення резистентності до флуконазолу в *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*, *C. sake* та *C. pelliculosa* [18].

Згідно з даними, отриманими з 8 центрів Російської Федерації, серед 10 711 тест-штамів резистентними до флуконазолу виявились 11 %, найбільше флуконазол-резистентних ізолятів було виділено від пацієнтів хірургічних відділень (22,9 %), ВРІТ хірургічного профілю (20,7 %) та відділень гематології/онкології (18,7 %). Дані щодо чутливості грибів до вориконазолу свідчать про резистентність 25,8 % штамів *C. glabrata*, 15,6 % флуконазол-резистентних *C. krusei* та 21,4 % штамів *C. parapsilosis* [18]. Найбільшу кількість вориконазол-резистентних штамів виділені від пацієнтів хірургічних відділень

(17,5 %) та ВІРТ хірургічного профілю (15,5 %).

Згідно з даними дослідження «КРІТ», резистентність до флуконазолу штамів *Candida* досить висока – 21 %, до вориконазолу – близько 1 %. Усі тести були чутливими до позаконазолу [18].

Стан резистентності до антифунгальних засобів, зокрема, флуконазолу та ехінокандинів, дещо інший у США. Проведеною оцінкою чутливості/резистентності виділених клінічних ізолятів грибів виявлено зниження кількості флуконазол-резистентних штамів *Candida* на 10–25 % та збільшення (на 77–147 %) кількості стійких до ехінокандинів штамів [18].

Отримані дані щодо резистентності клінічних ізолятів грибів *Candida* свідчать про те, що резистентність – динамічний процес, який потребує постійного моніторингу активності антимікробних засобів, особливо в стаціонарах з високим рівнем використання антимікробних препаратів. Окрім раціонального використання антимікробних препаратів, швидка поява та розповсюдження резистентних штамів збудників актуалізують проблему розробки та впровадження в клінічну практику нових препаратів з вузьким та широким спектром активності, а також з новими механізмами антифунгальної дії.

Сьогодні на етапі доклінічних та клінічних досліджень знаходяться сполуки різних груп, похідні азолів, полієнів, ехінокандинів та ін. (таблиця).

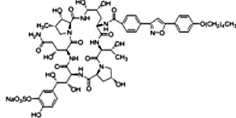
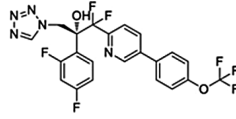
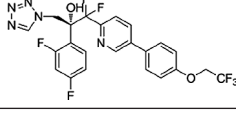
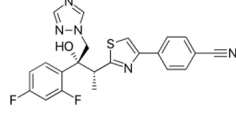
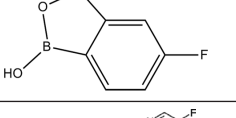
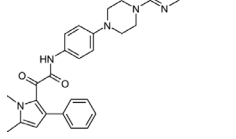
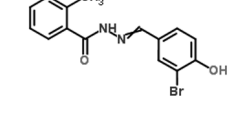
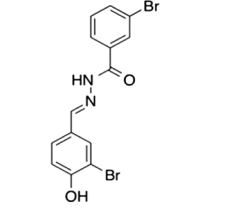
Нові полієни. SPK-843 – перспективний напівсинтетичний полієновий антимікотик, отриманий з *Streptomyces aureofaciens*. Сполука проявляє інгібуючу дію відносно *Candida spp.*, *C. neoformans* та *Aspergillus spp.*, яка переважає таку золотого стандарту – амфотерицину В. Експериментально встановлено, що на антифунгальні властивості сполуки впливає рН середовища, найвираженіша активність спостерігається в разі кислого рН. Ефективність SPK-843 *in vivo* доведено на мишах, інфікованих міцеліальними грибами (*A. fumigatus*, *A. niger*). На моделі легеневого аспергільозу, зумовленого *A. fumigatus*,

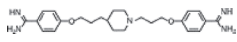
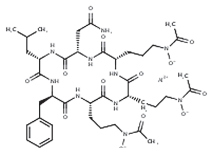
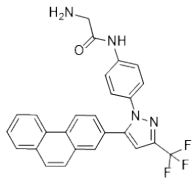
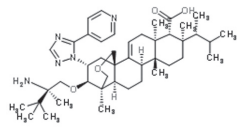
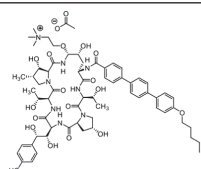
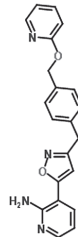
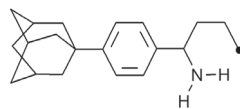
встановлено, що введення SPK-843 у дозі $\geq 0,5$ мг/кг сприяло збільшенню виживаності тварин. Ефективність сполуки проявляється в значно нижчих дозах, ніж у амбізому ($\geq 4,0$ мг/кг) та мікафунгіну (2,0–4,0 мг/кг). Дія сполуки є дозозалежною, що підтверджено в експериментах на інфікованих *A. niger* тваринах. SPK-843 є більш ефективною у високих дозах (4,0 мг/кг – відносно *A. flavus*; 2,0 мг/кг – відносно *A. niger*) ніж АмВ (1,0 мг/кг) та амбізом (8,0 мг/кг) [25]. Ефективність SPK-843 при криптококовому менінгіті підтверджена збільшенням виживаності інфікованих *C. neoformans* тварин у разі введення в дозах 0,5 мг/кг та 1,0 мг/кг [19, 20].

В експериментах на тваринах визначені фармакокінетичні показники: за умови внутрішньовенного введення SPK-843 щурам (1,25; 2,5 і 5 мг/кг) та мишам (1,25 і 2,5 мг/кг) $T_{1/2}$ складає в щурів 21, 27 і 39 год, у мишей 11 і 14 год відповідно; AUC – 33, 53, 84 мкг · год/мл при 1,25, 2,5 і 5 мг/кг відповідно (щури). $AUC_{0-\infty}$ у мишей склали 41 і 85 мкг · год/мл при введенні в дозах 1,25 і 2,5 мг/кг відповідно. Встановлено, що на фармакокінетичні показники SPK-843 впливають розчинники та рН [20]. Так, за умови одноразового внутрішньовенного введення щурам у дозі 1,25 мг/кг розподіл сполуки в тканинах складає: при введенні на 5 % розчині глюкози (рН 5,3) – 22,2 год, на 10 % ліпідній емульсії (рН 5,3) – 26,5 год, на 10 % ліпідній емульсії (рН 7,5) – 23,2 год; AUC – 35,5, 40,0 і 44,8 мкг · год/мл відповідно.

Фармакокінетичні параметри SPK-843 у людини досліджені в І фазі клінічних випробувань за участю здорових добровольців (інфузійне введення 10 % ліпідного розчину протягом 1 год) при застосуванні в дозах 0,0625; 0,125; 0,25 і 0,5 мг/кг [21]. Отримані результати показали, що C_{max} , AUC, $T_{1/2}$ та V_{ss} є дозозалежними: C_{max} у межах $(0,519 \pm 0,057) - (2,36 \pm 0,32)$ мкг/мл; AUC – $(17,2 \pm 0,32) - (129,0 \pm 12,0)$ мкг · год/мл; $T_{1/2}$ – $(55,2 \pm 11,0) - (124,0 \pm 22,0)$ год; V_{ss} – $(268 \pm 30) - (654 \pm 120)$ залежно від введеної дози. Кліренс – у межах $(3,78 \pm 0,57) - (3,90 \pm$

Нові антифунгальні засоби

Сполука, препарат	Фірма-розробник	Етап дослідження	Спектр активності	Хімічна структура
Полієни/макроліди				
SPK-843	Proaparts srl (Італія)	Фаза III (завершена)	<i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>Aspergillus spp.</i>	
VT-1129	Viamet (США)	Доклінічні дослідження	<i>Cryptococcus spp.</i> , <i>Candida spp.</i>	
VT-1161	Viamet (США)	Фаза IIb	<i>Candida spp.</i> , <i>R. arrhizu</i>	
VT-1598	Viamet (США)	Доклінічні дослідження	<i>Candida spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Coccidioides spp.</i> , <i>Histoplasma spp.</i> , <i>Blastomyces spp.</i>	Дані відсутні
Азоли				
Равуконазол (BMS-207147, ER-30346)	Bristol-Myers Squibb (США)	Фаза I/II	<i>Candida spp.</i> (у тому числі <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i>), <i>Scedo-sporium spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>C. neoformans</i>	
Сполуки та препарати інших груп				
Керидин Tavaborole (AN2690)	Anacor Pharmaceuticals Inc. (США/Канада)	Фаза III (завершена)	<i>Trichophyton spp.</i>	
F901318	F2G Ltd. (Великобританія)	Фаза II	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Scedosporium spp.</i> , <i>L. prolificans</i>	
(BHBM) N'-(3-Br-4-гідроксибензиліден)-2-метил-бензозідазиди	-	Доклінічні дослідження	<i>C. neoformans</i> , <i>C. gattii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>H. capsulatum</i> , <i>B. dermatitidis</i> , <i>P. murinum</i> , <i>P. jirovecii</i>	
D0 3-Br-N'-(3-Br-4-гідроксибензиліден)бензогідазиди	-	Доклінічні дослідження	<i>C. neoformans</i> , <i>C. gattii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>H. capsulatum</i> , <i>B. dermatitidis</i> , <i>P. murinum</i> , <i>P. jirovecii</i>	

Сполука, препарат	Фірма-розробник	Етап дослідження	Спектр активності	Хімічна структура
T-2307	Toyama Chemical Co., Ltd. (Японія)	Доклінічні дослідження	<i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>F. solani</i> , <i>M. racemosus</i>	
VL-2397 (ASP-2397)	Vical, San Diego, CA, (США)	I фаза	<i>C. glabrata</i> , <i>C. kefyi</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>T. asahii</i> , <i>F. solani</i>	
AR12 (OSU-03012)	Arno Therapeutics Flemington; Medkoo Biosciences (США)	Доклінічні дослідження	<i>T. rubrum</i> , <i>T. tonsurans</i> , <i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Mucor spp.</i> , <i>Blastomyces spp.</i> , <i>Histoplasma spp.</i> , <i>Coccidioides spp.</i>	
SCY-078 (MK-3118)	Scynexis	Фаза II (перорально) Фаза I (внутрішньовенно)	<i>Candida spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i>	
CD 101	Seachaid Pharmaceuticals, (США)	Фаза II	<i>Candida spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i>	
E1210/ E1211	LabNetwork and Daejung Chemical & Metal Co. LTD.	Доклінічні дослідження	<i>Candida spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Scedosporium spp.</i>	
AM-166	ПАТ НВЦ «БХФЗ» (Україна)	Доклінічні дослідження	<i>Candida spp.</i> (у тому числі <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i>), <i>C. neoformans</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Trichophyton spp.</i>	

0,36) і практично не залежить від дози препарату. У випробуванні встановлено, що понад 90 % введеної дози виводиться нирками, менше ніж 1 % – у незміненому стані впродовж 120 год.

У рандомізованому клінічному випробуванні за участю здорових добровольців встановлені фармакокінетичні параметри SPK-843 за умови повторних внутрішньовенних введень. Сполу-

ку вводили інфузійно в дозах 0,0625; 0,125 або 0,25 мг/кг протягом 1 год упродовж 14 днів. Значення $C_{\max}$ у крові складали: 0,647; 1,180 і 2,030 мкг/мл відповідно до введеної дози, у плазмі – 0,888; 1,185 і 1,250 мкг/мл відповідно [20, 22].

Ефективність SPK-843 оцінено в III фазі клінічних випробувань з визначення ефективності, безпеки та фармакокінетики за участю пацієнтів з мікозами, викликаними *C. neoformans* та *Aspergillus spp.* Отримані результати свідчать про перспективність застосування SPK-843 у клінічній практиці.

До нових полієнових антибіотиків відноситься ліпосомальний ністатин (Nyotran, Aronex Pharmaceuticals Inc.), який знаходиться на стадії доклінічних та клінічних випробувань (розробка препарату триває понад 20 років). Ліпосомальний ністатин виявляє більш високу активність відносно *Geotrichum spp.*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *Beauvaria spp.* Дані щодо клінічної ефективності обмежені. У літературі представлені результати клінічних випробувань ефективності ліпосомального ністатину при інвазивному аспергільозі в онкологічних хворих, а також фармакокінетичні показники, отримані в пацієнтів з ВІЛ-інфекцією (фаза I) [23].

Виразна антифунгальна активність притаманна водорозчинним полієновим макролідам: S44HP, BSG003, BSG005, BSG018, BSG019 і BSG022. Оскільки ці сполуки відносяться до гептанів, їх можна розглядати як аналоги AmpB [24, 25]. Нові полієни отримані генно-інженерною технологією з ністатин-продукуючого штаму *S. noursei* ATCC 11455. Дослідження антифунгальної дії показало, що сполуки виявляють інгібуючу дію відносно дріжджоподібних та міцеліальних грибів, МІК відносно грибів роду *Candida* (*C. albicans*, *C. humicola*) у межах 0,5–2,0 мкг/мл, міцеліальних грибів (*A. niger*, *F. oxysporum*) – 2,0–4,0 мкг/мл. Найменш активними відносно тест-штамів мікроорганізмів виявились сполуки BSG018 та BSG022 (МІК BSG018 – 2,0–16,0 мкг/мл, BSG022 – 4,0–8,0 мкг/мл залежно від мікроорганізму). Сполука BSG018 не активна відносно *F. oxysporum* (МІК >

16 мкг/мл), BSG022 – відносно *C. humicola* (МІК > 16 мкг/мл) [24].

Нові похідні азолів. Перспективним антимікотиком є равуконазол (BMS-207147, ER-30346), який виявляє широкий спектр антимікотичної активності, у тому числі відносно полірезистентних штамів. До дії препарату чутливі *Candida spp.*, зокрема, *C. glabrata*, *C. krusei*, а також *Scedosporium spp.*, *Aspergillus spp.* та *C. neoformans*. Препарат менш активний відносно флуконазол-резистентних штамів *Candida spp.* [26]. У 2004 році завершено дослідження (I/II фаза, NCT00064311) з оцінки ефективності та безпечності равуконазолу для профілактики мікозів у онкохворих після трансплантації стовбурових клітин (24 особи) [27]. Результати дослідження не опубліковано.

Перспективними для створення нових антифунгальних препаратів є сполуки VT-1129, VT-1161 і VT-1598 – представники нового класу інгібіторів металоензимів, які, як і азолі та триаколи, інгібують 14 α -деметилазу. Дослідженнями встановлено високу афінність сполук до активного сайту ферменту грибів: VT-1129 у 3000 разів більш селективна для ізоформ CYP51 *Cryptococcus spp.* порівняно з CYP51 людини, VT-1161 – у 2000 разів для *Candida spp.* Крім того доведено, що на відміну від перших поколінь азолів, зазначені сполуки менш виразно зв'язуються з гемом, що може свідчити про їхній більш сприятливий профіль безпеки.

Спектр дії VT-1129 включає *Cryptococcus spp.*, у тому числі *C. neoformans* і *C. gattii* та *Candida spp.* [28]. Сполука за активністю переважає флуконазол, МІК₉₀ відносно *C. neoformans* складає 0,015–4,0 мкг/мл (МІК₉₀ флуконазолу – 0,25–64 мкг/мл). VT-1129 виявилася більш ефективною за флуконазол *in vivo* на моделі криптококового менінгіту мишей та в разі вагінального кандидозу. Введення сполуки в дозах $\leq 4,0$ мкг/мл сприяло зменшенню мікробного обсіменіння вже з 1 дня застосування ($p < 0,0001$). Подібний ефект реєстрували у тварин, інфікованих флуконазол-резистентними штамми мікроорганізмів [29].

У клінічних випробуваннях заплановано оцінити безпечність (фаза I) одноразової дози, а також безпечність при введенні повторних доз сполуки VT-1129, яка в доклінічних дослідженнях виявила виразну інгібуючу дію відносно *S. neoformans* [30].

Перспективною для створення нового антифунгального засобу є сполука VT-1161. У доклінічних дослідженнях VT-1161 продемонструвала широкий спектр антифунгальної активності відносно дерматоміцетів, міцеліальних грибів та грибів роду *Candida*, у тому числі й до азол-резистентних штамів, які часто спричиняють рецидивуючий кандидоз. МІК відносно дерматоміцетів у межах 0,016–0,5 мкг/мл, відносно *R. arrhizus* – 0,25–2,0 мкг/мл. Ефективність сполуки доведено на імуні-компроментованих мишах, інфікованих *R. arrhizus*. Введення сполуки в дозі 15,0 мг/кг сприяло підвищенню виживання мишей та зменшенню кількості мікроорганізмів в органах та тканинах, зокрема, у легенях та мозку. Встановлено, що VT-1161 за ефективністю переважає ліпосомальний АмВ. За допомогою рідинної хроматографії встановлено дозозалежний рівень сполуки VT-1161 у плазмі крові, який перевищує МІК відносно *R. arrhizus* [31].

Ефективність VT-1161 при дерматомікозах встановлена на інфікованих *T. mentagrophytes* кролях за умови перорального застосування в дозах 5, 10 або 25 мг/кг 1 раз на 1 день або 70 мг/кг 1 раз на 1 тиждень. Введення сполуки сприяло зниженню мікробного навантаження ($p < 0,001$) та поліпшенню клінічних проявів захворювання ($p < 0,001$). Профіль ефективності VT-1161 еквівалентний такому ітраконазолу та тербінафіну. При введенні сполуки 1 раз на 1 тиждень внутрішньовенно VT-1161 перевершує ефективність ітраконазолу ($p < 0,05$). У фармакокінетичних дослідженнях встановлено, що після одноразового перорального застосування концентрації в плазмі були пропорційні введеній дозі та зберігалися на рівні або вище значень МІК протягом ≥ 48 год [32]. Дані фармакокінетичних досліджень, проведених на мишах з канди-

дозним вульвовагінітом, показали високий об'єм розподілу (1,4 л/кг), високу пероральну абсорбцію (73 %), тривалий період напіврозпаду (> 48 год) та швидке проникнення в тканину піхви.

Виражена активність та високий терапевтичний індекс свідчать, що препарат на основі VT-1161 може бути більш ефективним порівняно з стандартами, які рекомендовано застосовувати в пацієнтів з оніхомікозами та рецидивуючими вульвовагінітами. Клінічні випробування VT-1161 (фаза IIb) у пацієнтів з оніхомікозами та рецидивуючими кандидозними вульвовагінітами завершено в 2016 році. За умови позитивних результатів у 2017 році заплановано проведення фази III клінічних випробувань.

На етапі доклінічного дослідження знаходиться сполука VT-1598, спектр дії якої включає міцеліальні, дріжджоподібні гриби та ендемічні гриби – *Coccidioides spp.*, *Histoplasma spp.* і *Blastomyces spp.* [28]. У 2017 році ФК «Viamet» планує розпочати клінічні випробування (фаза I) з оцінки безпеки застосування одноразової дози препарату.

Нові сполуки та препарати інших груп. У 2014 році FDA дозволила для медичного застосування новий топічний антифунгальний засіб – Керидин (Tavaborole, AN2690), 5 % розчин, виробництва Anacor Pharmaceuticals Inc. (США/Канада). Препарат рекомендовано для застосування при оніхомікозах, обумовлених *T. mentagrophytes* та *T. rubrum*, а також деякими видами дріжджоподібних грибів [44]. Керидин завдяки низькій молекулярній масі здатен проникати в нігтьову пластинку, у товщі якої концентрація препарату перевищує мінімальну інгібуючу. Механізм дії препарату зумовлений інгібіцією ферменту лейцил-тРНК-синтетази грибів, що призводить до порушення росту та загибелі клітини [33]. При радіоізотопному дослідженні вмісту в нігті сполуки AN2690 (20 % пропіленгліколь + 70 % етанол) встановлено, що концентрація сполуки у зразку значно перевищувала таку циклопіроксу ($26,06 \pm 12,41$) проти ($4,38 \pm 2,73$), $p = 0,0022$). При

дослідженні фармакокінетики встановлено, що після застосування впродовж 14 днів (1 раз на 1 добу) $T_{1/2}$ складає 28,5 год, $C_{\max}$ – 5,17 нг/мл, AUC – $(75,8 \pm 44,5)$ нг · год/мл. Дослідження показали, що незначна частина препарату здатна абсорбуватись і виявляється в системному кровотоці. Сполука виводиться з організму нирками.

У клінічному випробуванні II фази за участю 15 пацієнтів досліджено кореляцію між фармакокінетикою та фармакодинамікою керидину при нанесенні протягом 28 днів. Отримані результати показали, що тривале застосування супроводжується накопиченням сполуки в нігтьовій пластинці: на 1 день експерименту концентрація керидину в нігті складала $(6,2 \pm 2,4)$ мкг/мг, на 14 день – $(23,1 \pm 12,5)$ мкг/мг, на 28 день – $(28,8 \pm 22)$ мкг/мг, через 2 тижні після завершення дослідження – $(9,9 \pm 8,2)$ мкг/мг.

Ефективність при оніхомікозах доведена у двох багатоцентрових, подвійних сліпих, рандомізованих дослідженнях (III фаза) за участю 1194 пацієнтів. Результати клінічних випробувань препарату Керидин свідчать про сприятливий профіль безпеки та ефективності [34].

Першим представником оротомідів є сполука F901318 (F2G Ltd., Великобританія), перспективна для системного застосування при інвазивних аспергільозах. F901318 активна відносно *Aspergillus spp.* (МІК $\leq 0,06$ мкг/мл), *Scedosporium spp.* (МІК 0,046–0,5 мкг/мл) і *L. prolificans* (0,12–0,25 мкг/мл) [35]. Механізм дії F901318 зумовлений пригніченням ферменту дигідрооротатдегідрогенази, що бере участь у біосинтезі піримідину. У дослідженнях на мишах на моделі легеневого аспергільозу доведено її ефективність при інфікуванні азол- та амфотерицин-резистентними штаммами *A. fumigatus*.

У подвійному сліпому, плацебо-контрольованому, з одноразовим введенням та багаторазовим підвищенням дози дослідженні встановлювали безпечність, переносимість та фармакокінетичні параметри препарату, розробленого на основі F901318. Випробування (2016, NCT02342574; 2015,

NCT02142153; 2016, NCT02394483) проведені за участю здорових добровольців для встановлення режиму дозування для фази II клінічних випробувань при внутрішньовенному введенні. Дози препарату складали 0,25–4,0 мг/кг. Упродовж дослідження визначали фармакокінетичні параметри в крові та сечі. Отримані дані свідчать, що терапевтичні рівні F901318 досягаються після повторного введення, а в сечі препарат виявляється в незначній кількості. Результати клінічних досліджень підтвердили безпечність препарату, його застосування не супроводжувалося побічними реакціями [36]. У клінічному випробуванні (фаза I) оцінюється також ефективність комбінованої терапії F901318 та флуконазолом (2016, NCT02730442) (дослідження здійснюється в 2 етапи, за участю 32 здорових добровольців) [37]. У 2016 році розпочаті також клінічні випробування Іа фази для оцінки безпечності та фармакокінетики F901318 у комбінації з каспофунгіном при внутрішньовенному та пероральному застосуванні для профілактики мікозів у пацієнтів з гострою мієлоїдною лейкемією, які отримують хіміотерапію (2016, NCT02856178). Фармацевтична компанія «F2G» у 2017 році отримала дозвіл ЄМА на проведення клінічних досліджень з оцінки безпечності та ефективності (II фаза) препарату F901318 у пацієнтів з інвазивним аспергільозом та сцедоспориозом.

У доклінічних випробуваннях оцінюється перспективність сполук ВНВМ (N'-(3-бром-4-гідроксибензиліден)-2-метилбензогідразиди) та D0 (3-бром-N'-(3-бром-4-гідроксибензиліден)бензогідразиди). Механізм антифунгальної дії цих сполук зумовлений інгібуванням біосинтезу сфінголіпідів у клітинах *C. neoformans* та порушенням їхнього поділу. Сполуки є специфічними інгібіторами глікозилцерамиду грибів. В експериментах *in vitro* встановлено спектр антифунгальної активності, який включає *C. neoformans* і *C. gattii* (у тому числі резистентні до флуконазолу штами), а також *H. capsulatum*, *B. dermatitidis*, *P. murinum* і *P. jirovecii*. В експериментах на мишах на моделі інвазивного

мікозу, викликаного *C. neoformans*, *C. albicans* і *P. murinum*, встановлено, що введення сполук збільшує тривалість життя інфікованих тварин. Антифунгальний ефект підвищується при сумісному застосуванні з флуконазолом та амфотерицином В [38].

На етапі клінічних досліджень знаходиться сполука VL-2397 (ASP 2397), виробництва ФК «Vical», уперше синтезована ФК «Astellas Pharma Inc.». До дії сполуки чутливі *Aspergillus spp.*, *C. neoformans*, *C. glabrata*, *C. kefyr* і *Tr. asahii* та *F. solani*, у тому числі відносно азол-резистентних штамів грибів. VL-2397 неактивна відносно *C. albicans* та деяких представників мукових. Механізм специфічної антифунгальної активності сполуки ще не з'ясовано. В експериментах *in vitro* встановлено, що відносно *Aspergillus spp.* VL-2397 проявляє фунгіцидну дію [39].

Ефективність VL-2397 *in vivo* доведена на мишах на моделі інвазивного аспергілїозу, спричиненого *A. fumigatus*. Введення VL-2397 підвищувало виживаність інфікованих тварин, за ефективністю сполука перевершувала ефективність АмВ, позаконазолу та каспифунгіну. Отримані дані свідчать, що VL-2397 може застосовуватись у комбінованій терапії з позаконазолом при аспергілїозах у осіб з імунodefіцитом та пацієнтів після трансплантації органів [39].

У 2016 році розпочато фазу І клінічного дослідження (рандомізоване, подвійне сліпе) з визначення безпеки, переносимості та фармакокінетики VL-2397 за участю здорових добровольців при одноразовому введенні та застосуванні повторних доз [40].

Представником цефекоксидів з антифунгальними властивостями є сполука AR-12. Антифунгальна активність виявлена при проведенні клінічних випробувань з оцінки безпечності та ефективності препарату як протипухлинного засобу. Спектр дії AR-12 включає дріжджоподібні гриби роду *Candida spp.*, у тому числі і *non-albicans*, *C. neoformans*, філаментуючі (*Fusarium spp.* і *Mucor spp.*) і диморфні гриби (*Blastomyces spp.*, *Histoplasma spp.*, *Coccidioides spp.*), МІК 2–4 мкг/мл. AR-12 активна відносно чутливих та резистентних до азолів та

ехінокандинів штамів *Candida spp.* Особливістю сполуки є здатність у субінгібуєчих концентраціях підвищувати чутливість резистентних штамів грибів роду *Candida* до антифунгальних засобів. До дії сполуки чутливі також *T. rubrum* та *T. tonsurans* – основні збудники оніхомікозів. При дослідженні механізму антифунгальної дії встановлено, що AR-12 інгібує ацетил-КоА-синтетазу грибів, фунгіцидна дія спостерігається при концентраціях, які досягаються в плазмі крові людини. AR-12 є ефективною при криптококозі та оніхомікозі, а її сумісне застосування з флуконазолом підвищує специфічну дію останнього [41]. Згідно з даними, отриманими ВЕРХ, через 7 днів щоденного нанесення кількість AR-12 у нігтьовій пластинці складає $(0,82 \pm 0,11)$ нг/см², що перевершує МІК відносно *T. rubrum* та *T. tonsurans* [42].

Виразну протикандидозну активність виявляє похідне ариламідів – Т-2307. Спектр дії сполуки включає як *C. albicans*, так і *non-albicans*. До дії сполуки Т-2307 чутливі штами грибів, резистентні до антифунгальних препаратів, зокрема *C. glabrata*. МІК відносно ехінокандин-резистентних ізолятів становить 0,0135 мкг/мл, *Candida spp.* – 0,00025–0,00780 мкг/мл, *C. neoformans* – 0,0039–0,0625 мкг/мл [43]. Окрім грибів родів *Candida* та *Cryptococcus*, спектр активності сполуки включає також міцеліальні гриби: *Aspergillus spp.* (МІК – 0,0156–2,0 мкг/мл); *F. solani* (МІК – 0,125 мкг/мл); *Mucor racemosus* (МІК – 2 мкг/мл) [28]. Сполука Т-2307 відносно *Aspergillus spp.* не поступається за активністю вориконазолу та мікафунгіну й переважає дію вориконазолу, флуконазолу та мікафунгіну відносно представників родів *Candida*, *Cryptococcus* та *Fusarium*. Механізм антифунгальної активності Т-2307 пов'язаний з впливом на мітохондрії клітини грибів [44]. Сполука змінює мембранний потенціал, порушує дихання та утворення енергії. Т-2307 є високоспецифічною до Аgp2 спермін/спермидин транспортеру. Ефективність *in vivo* встановлена на мишах з дисемінованим кандидозом, спричиненим ехінокандин-резистентним штамом *C. glabrata*.

Сполука в досліджених дозах (0,75, 1,5, 3 або 6 мг/кг підшкірно 1 раз на 1 добу) сприяла зниженню мікробного обсіменіння в органах тварин [28].

E1210/E1211, активна сполука та її попередник (проліки) відповідно пригнічують біосинтез глікозилфосфатидилінозиту (ГФІ) у грибів в концентрації 0,3–0,6 мкМ, проте, не впливають на аналогічний метаболічний шлях у людини [45]. Цей процес є необхідним для закріплення білків у цитоплазматичній мембрані. Сполука пригнічує формування ростових трубочок, адгезію та формування біоплівки у *C. albicans*, проявляє активність *in vitro* відносно *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* та *Scedosporium spp.*, МІК становить 0,002–0,250 мкг/мл, 0,008–0,250 мкг/мл, 0,015–0,250 мкг/мл та 0,03–0,250 мкг/мл відповідно. При концентраціях 1–2 мкг/мл сполука проявляє фунгіцидну активність. Важливо, що до дії E1210 проявляють чутливість резистентні до азолів та ехінокандинів штами *Candida spp.* Ефективність E1210 при пероральному застосуванні встановлена на моделі дисемінованого кандидозу мишей, викликаного стійким до азолів штамом *C. albicans*. Сполука сприяє виживанню мишей з дисемінованим кандидозом та аспергільозом легень, хоча й у більш високих дозах порівняно з каспофунгіном, ліпосомальним амфотерицином та флуконазолом/вориконазолом та є ефективною при дисемінованому фузаріозі [45, 46].

Новим представником ехінокандинів є амінокадин (IP 960, HMR 3270) – продукт ферментації *Aspergillus sydowi*. Препарат виявляє широкий спектр активності, але до його дії не чутливі зігноміцети та *Fusarium spp.* Препарат знаходиться на стадії доклінічних та клінічних випробувань [23].

CD 101 (SP 3025, біафунгін) – нова антифунгальна сполука для місцевого або внутрішньовенного застосування, за активністю *in vitro* відносно грибів родів *Aspergillus* та *Candida* наближається до анідулафунгіну або каспофунгіну, МІК 0,008–0,030 мкг/мл та 0,008–2,0 мкг/мл відповідно. Основні переваги CD101 перед існуючими ехі-

нокандинами полягають у її фармакокінетичних властивостях: $T_{1/2}$ *in vivo* складає 81 год (у анідулафунгіну, ехінокадину – 24 год). Отримані дані свідчать про те, що режим застосування біафунгіну потенційно може передбачати внутрішньовенне введення лише 1 раз на 1 тиждень. Біафунгін, як і інші ехінокандини, демонструє сприятливий профіль безпеки та практично не взаємодіє з іншими лікарськими засобами. Нині цей препарат перебуває на фазі II клінічних випробувань для лікування кандидемії [28, 47].

SCY-078 (МК-3118, Scynexis) є новим інгібітором β -1,3-глюкансинтази, структурно відмінним від відомих ехінокандинів. Сполука є похідним енфумафунгіну, речовини природного походження, активна *in vitro* відносно *Candida spp.* (у тому числі відносно флуконазол-резистентних штамів) та *Aspergillus spp.*, МІК становлять 0,03–2,0 мкг/мл і 0,03–0,25 мкг/мл відповідно, а її ефективність *in vivo* доведена на моделі інвазивного кандидозу. Крім того, сполука пригнічує ріст та розмноження деяких стійких до ехінокандинів штамів грибів. Важливо зазначити, що SCY-078 є єдиним інгібітором β -1,3-глюкансинтази, який проявляє інгібуючу дію відносно панрезистентного *S. prolificans*. Нині ефективність та безпечність препарату SCY-078 оцінюється у хворих на інвазивний кандидоз: при внутрішньовенному введенні – у фазі I клінічних досліджень, при пероральному застосуванні – у фазі II [28, 48].

Ніккоміцини є інгібіторами хітинсинтази, що бере участь у синтезі компонента клітинних стінок грибів – хітину [9, 49, 50]. Представником цього класу є Ніккоміцин Z (SP-920704), ефективний *in vivo* та *in vitro* відносно диморфних грибів *C. immitis* і *B. dermatitidis*, помірно активний *in vitro* відносно *C. albicans*, *C. neoformans* і *H. capsulatum*. У комбінації з флуконазолом або ітраконазолом спостерігається синергізм дії відносно *Candida spp.*, *C. neoformans* і *A. fumigatus* та *in vivo* – проти *H. capsulatum*. Визначали безпечність препарату в клінічних умовах за участю 32 здорових добровольців та фармакокінетичні показники (фаза I,

НСТ00834184, 2008-2009 р.) при пероральному введенні в дозах 250, 500, 750 мг упродовж 14 днів. В учасників дослідження визначали вміст препарату в крові та сечі. Результати дослідження не опубліковано [51]. Мета дослідження NST01647256 (фаза I, 2012–2013 рр.) – отримати додаткові дані з безпеки препарату та вплив їжі на фармакокінетику показники ніккоміцину. У дослідженні NST00614666 планували оцінити безпечність препарату при введенні в різних дозах (протягом 14 днів) хворим на глибокі системні мікози (кокцидіоїдна гранульома, хвороба Пасадаса-Верніке). Згідно з даними [52], дослідження припинено.

Новим класом потенційних антифунгальних засобів є солдарини, які пригнічують синтез білка в клітинах грибів. Мішень дії солдаринів – фактор елонгації 2. Антифунгальна активність виявлена у сполук GM-193663, GM-237354 та ін. Спектр їхньої дії включає *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *S. neoformans*, *P. carinii* та деякі інші гриби. *In vitro* доведений синергічний ефект солдаринів з АмрВ, ітраконазолом та вориконазолом проти *Aspergillus spp.*, *S. apiospermum*. В експериментах *in vivo* доведено високу ефективність при кандидозі та пневмонії, зумовленій *P. carinii* [9, 53].

Виразну антифунгальну дію виявлено в похідних аміноадамantanу, зокрема, у сполуки АМ-166. Адамantanамісна сполука виявляє антибактеріальну та антифунгальну дію, остання включає дріж-

джоподібні, плісняві гриби та дерматоміцети. АМ-166 є активною відносно біоплівки. У дослідженнях *in vivo* доведено терапевтичну ефективність при генералізованому кандидозі та місцевого інфекційно-запального процесі, зумовленому як монозбудниками *C. albicans*, так і мікст-інфекцією (*C. albicans* + *P. aeruginosa*). Механізм дії сполуки є комплексним, зумовлений мембранотропними властивостями, порушенням синтезу ергостерину та дихання мікроорганізмів (НАД- та ФАД-залежні ланки дихального ланцюга). Сполука є інгібитором ефлюксних pomp [54–56]. Нині завершені доклінічні дослідження мазі, НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» здійснюється підготовка до проведення фази I клінічних випробувань.

Висновок

Таким чином, не дивлячись на наявність у медичній практиці достатньої кількості антифунгальних засобів, постійно здійснюється пошук сполук з виразною специфічною дією з метою розробки нових ефективних та безпечних препаратів. Необхідність їхнього впровадження в клінічну практику підтверджується даними щодо частоти виявлення резистентних штамів мікроорганізмів, що знижує ефективність антифунгальної терапії. Представлені відомості щодо доклінічних та клінічних досліджень нових антимікотиків підтверджують доцільність їхнього впровадження в медичну практику.

1. Сергеев Ю. В. Фармакотерапия микозов / Ю. В. Сергеев, Б. И. Шпигель, А. Ю. Сергеев. – Москва : Медицина для всех, 2003. – 200 с.
2. Thompson G. R. Overview of antifungal agents / G. R. Thompson, J. Cadena, T. F. Patterson // Clinics in Chest Medicine. – 2009. – V. 30, № 2. – P. 203–215.
3. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии; под. ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. – Москва, 2002. – 375 с.
4. Slobbe L. Tolerability of prophylactic aerosolized liposomal amphotericin-B and impact on pulmonary function: data from a randomized placebo-controlled trial / L. Slobbe, E. Boersma, B. J. Rijnders // Pulm. Pharmacol. Ther. – 2008–2012. – V. 21, № 6. – P. 855–859.
5. Державний реєстр лікарських засобів України. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.drlez.com.ua>
6. Нормативно-директивні документи МОЗ України. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://mozdoks.kiev.ua>
7. Державний Формуляр лікарських засобів. [Електронний ресурс] – Режим доступу: preparaty.org/info/1421
8. Иванова Л. В. Резистентность грибов-патогенов к антимикотикам / Л. В. Иванова, Е. П. Баранцевич, Е. В. Шляхто // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 14–17.
9. Митрофанов В. С. Системные антифунгальные препараты [Електронний ресурс] / В. С. Митрофанов – Режим доступу: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/preparat1.html>

10. Hypothesis on the molecular basis of the antifungal activity of N-substituted imidazoles and triazoles / H. Van den Bossche, G. Willemsens, W. Cools [et al.] // *Biochem. Soc. Trans.* – 1983. – V. 11. – P. 665–667.
11. Chakrabarti A. Drug resistance in fungi – an emerging problem / A. Chakrabarti // *Regional Health Forum*. – 2011. – V. 15, № 1. – С. 97–103.
12. Peman J. Antifungal drug resistance mechanisms / J. Peman, E. Canton, A. Espinel-Ingroff // *Expert Rev Anti Infect Ther.* – 2009. – V. 7, № 4. – P. 453–460.
13. Демецкая А. В фокусе: противогрибковые средства [Электронный ресурс] / А. Демецкая // *Фармацевт Практик*. – 2015. – № 07–08. – Режим доступа: <http://fp.com.ua/articles/v-fokuse-protivogribkovyye-sredstva/>
14. Hantschke D. Double blind, randomized *in vivo* investigations comparing the antifungals clotrimazole, tolnaftate and naftifine (author's transl) / D. Hantschke, M. Reichenberger // *Mykosen*. – 1980. – V. 23, № 12. – P. 657–668.
15. Матушевская Е. В. Нафтифин в терапии грибковых инфекций кожи: 40 лет успеха / Е. В. Матушевская, Е. В. Смирщевская // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2014. – № 2. – С. 72–77.
16. *In vitro* antifungal activity of naftifine hydrochloride against dermatophytes / M. Ghannoum, N. Isham, A. Verma [et al.] // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2013. – V. 57, № 9. – С. 4369–4372.
17. Vandeputte P. Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections [Электронный ресурс] / P. Vandeputte, S. Ferrari, A. Coste // *International Journal of Microbiology*. – 2012. – Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2012/713687/>
18. Веселов А. В. Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов (в вопросах и ответах) / А. В. Веселов, Р. С. Козлов // *Клинич. микробиол. и антимикроб. химиотерапия*. – 2016. – Т. 18, № 52. – С. 1–104.
19. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis / H. Kakeya, Y. Miyazaki, H. Senda [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2008. – V. 52, № 5. – P. 1868–1870.
20. Kasanah N. SPK-843 (Aparts/Kaken) / N. Kasanah, M. T. Hamann // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* – 2005. – V. 6, № 8. – P. 845–853.
21. Pharmacokinetics (PK), safety and tolerability of SPK-843ID in healthy Japanese males / S. Sesoko, I. Michigami, K. Umemura [et al.] // *43 ICAAC* – 2003. – A–1570.
22. Multiple-dose injection of SPK-843, a new antifungal polyene, was safe and tolerable in healthy Japanese males / S. Sesoko, I. Michigami, K. Umemura [et al.] // *44 ICAAC*. – 2004. – Abstr. – A–42.
23. Веселов А. В. Системные антимикотики: состояние и перспективы / А. В. Веселов // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 73–80.
24. Structure-antifungal activity relationships of polyene antibiotics of the amphotericin B group / A. N. Tevyashovaa, E. N. Olsufyevaa, S. E. Solovieva [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2013. – V. 57, № 8. – P. 3815–3822.
25. New nystatin-related antifungal polyene macrolides with altered polyol region generated via biosynthetic engineering of *Streptomyces noursei* / T. Brautaset, H. Sletta, K. F. Degnes [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2011. – V. 77, № 18. – P. 6636–6643.
26. Pasqualotto A. C. Novel triazole antifungal drugs: focus on isavuconazole, ravuconazole and albaconazole / A. C. Pasqualotto, K. O. Thiele, L. Z. Goldani // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* – 2010. – V. 11, № 2. – P. 165–174.
27. Ravuconazole in preventing fungal infections in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00064311>
28. Pianalto K. M. New horizons in antifungal therapy [Электронный ресурс] / K. M. Pianalto, J. A. Alsraugh // *J. Fungi*. – 2016. – V. 2, № 4. – P. 26. – Режим доступа: <http://www.mdpi.com/2309-608X/2/4/26/htm>
29. Efficacy of the clinical agent VT-1161 against fluconazole-sensitive and -resistant *Candida albicans* in a murine model of vaginal candidiasis / E. P. Garvey, W. J. Hoekstra, R. J. Schotzinger [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – V. 59, № 9. – P. 5567–5573.
30. VIAMET. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1538928/000119312516535590/d117508ds1.htm>.
31. VT-1161 protects immunosuppressed mice from *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* infection / T. Gebremariam, N. P. Wiederhold, A. W. Fothergill [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – V. 59, № 12. – P. 7815–7817.
32. VT-1161 dosed once daily or once weekly exhibits potent efficacy in treatment of dermatophytosis in a guinea pig model / E. P. Garvey, W. J. Hoekstra, W. R. Moore [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – V. 59, № 4. – P. 1992–1997.
33. Sharma N. An upcoming drug for onychomycosis: Tavaborole / N. Sharma, D. Sharma // *J. Pharmacol. Pharmacother.* – 2015. – V. 6, № 4. – P. 236–239.
34. Gupta A. K. Potential role of tavaborole for the treatment of onychomycosis / A. K. Gupta, D. Daigle // *Future Microbiol.* – 2014. – V. 9, № 11. – P. 1243–1250.
35. The novel orotomide F901318 demonstrates potent *in vitro* antifungal activity against *Lomentospora* and *Scedosporium* species / A. Fothergill, M. Birch, D. Law [et al.] // *26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2016. – Abstr. – № 4366.

36. Kennedy A. The Pharmacokinetics of F901318 in Man [Електронний ресурс] / A. Kennedy // American society for microbiology. – 2015. – P. 2070. – Режим доступу: <https://www.asm.org/index.php/asm-newsroom/371-news-room/icaac-releases/93701-the-pharmacokinetics-of-f901318-in-man>.
37. Study of potential for interaction of fluconazole with F901318 [Електронний ресурс] // A service of the U.S. National Institutes of Health. – 2017. – Режим доступу: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02730442>.
38. Identification of a new class of antifungals targeting the synthesis of fungal sphingolipids / V. Mor, A. Rella, A. M. Farnoud [et al.] // mBio. – 2015. – V. 6, № 3. – P. 1–15.
39. ASP2397: A Novel natural product with potent fungicidal activity against *Aspergillus* spp. – A new mode of action and in vitro activity / I. Nakamura, K. Ohsumi, K. Yoshikawa [et al.] // In Proceedings of the 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, 5–9 September, 2014. – DC, USA, 2014. – F–1590, F–1591.
40. Vical initiates phase 1 trial of novel antifungal compound VL-2397 [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.clinicalleader.com/doc/vical-initiates-phase-trial-of-novel-antifungal-compound-vl-0001>
41. The celecoxib derivative AR-12 has broad-spectrum antifungal activity *in vitro* and improves the activity of fluconazole in a murine model of cryptococcosis / K. Koselny, J. Green, L. DiDone [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2016. – V. 60, № 12. – P. 7115–7127.
42. Trans-ungual delivery of AR-12, a novel antifungal drug [Електронний ресурс] / A. S. Kushwaha, P. Sharma, C. Rappleye [et al.] –Режим доступу: <http://abstracts.aaps.org/Verify/AAPS2015/PosterSubmissions/R6046.pdf>.
43. The novel arylamidine T-2307 demonstrates in vitro and in vivo activity against echinocandin-resistant *Candida glabrata* / N. P. Wiederhold, L. K. Najvar, A. W. Fothergill [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2016. – V. 71, № 3. – P. 692–695.
44. T-2307 causes collapse of mitochondrial membrane potential in yeast / T. Shibata, T. Takahashi, E. Yamada [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2012. – V. 56, № 11. – P. 5892–5897.
45. E1210, a new broad-spectrum antifungal, suppresses *Candida albicans* hyphal growth through inhibition of glycosylphosphatidylinositol biosynthesis / N. A. Watanabe, M. Miyazaki, T. Horii [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2012. – V. 56, № 2. – P. 960–971.
46. Efficacy of oral E1210, a new broad-spectrum antifungal with a novel mechanism of action, in murine models of candidiasis, aspergillosis, and fusariosis / K. Hata, T. Horii, M. Miyazaki [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2011. – V. 55, № 10. – P. 4543–4551.
47. Biafungin (CD101), a Novel Echinocandin, Displays a Long Half - life in the Chimpanzee, Suggesting a Once – Weekly IV Dosing Option [Електронний ресурс] / K. James, R. Krishna, S. Smith [et al.]. – Режим доступу: <http://www.cidara.com/wp-content/uploads/2014/12/A-694-Biafungin-CD101-a-Novel-Echinocandin-Displays-a-Long-Half-life-in-the-Chimpanzee-Suggesting-a-Once-Weekly-IV-Dosing-Option.pdf>
48. Enfumafungin derivative MK-3118 shows increased in vitro potency against clinical echinocandin-resistant *Candida* species and *Aspergillus* species isolates / C. Jiménez-Ortigosa, P. Paderu, M. R. Motyl [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2014. – V. 58, № 2. – P. 1248–1251.
49. Talaviya S. Recent developments in antifungal agents / T. Smita, M. Falguni // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. – 2012. – V. 4, № 4. – P. 4–10.
50. Mura K. B. New antifungal drugs targets: a vision for the future [Електронний ресурс] / K. B. Mura // ASM news. – 1997. – V. 64, № 1. – P. 31–39. – Режим доступу: <http://www.asm.org/ccLibrary-Files/FILENAME/000000004444/Jan98KurtzFeature.pdf>
51. Safety and PK of Nikkomycin Z in healthy subjects [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00834184>.
52. Safety and PK of Nikkomycin Z for *Coccidioides Pneumonia* Treatment [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=NCT00614666>
53. Pharmacokinetics-Pharmacodynamics of a Sordarin Derivative (GM 237354) in a Murine Model of Lethal Candidiasis / P. Aviles, C. Falcoz, R. D. San Roman [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2000. – V. 44, № 9. – P. 2333–2340.
54. Вринчану Н. О. Кандидозна інфекція. Антигрибкова активність нового похідного адамантану // Н. О. Вринчану, Ю. М. Максимов // Ліки. – 2003. – № 5–6. – С. 79–82.
55. Пат. 79059 Україна, МПК (2006) А61К 31/3, А61Р 17/00, А61Р 31/00. Антимікробна мазь для профілактики та лікування хвороб шкіри інфекційного генезу / Н. О. Вринчану, Ю. М. Максимов, Г. І. Даниленко, С. В. Гужова, О. В. Стефанов, В. І. Кобилінська, В. Л. Макітрук, Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай, Є. О. Сова; заявники та власники: Інститут органічної хімії НАН України, Інститут фармакології та токсикології АМН України, № а2006070005; заявл. 23.06.2006; опубл. 10.05.2007, Бюл. № 6, 2006 р., А 79059.
56. Вринчану Н. О. Дослідження деяких сторін механізму антигрибкової дії нового похідного адамантану / Н. О. Вринчану, О. В. Сергієнко, Ю. М. Максимов // Морфологія. – 2009. – Т. III, № 2. – С. 24–27.

Н. О. Вринчану

Кандидоз. Проблемы та перспективи антифунгальної терапії (частина II)

Огляд літератури узагальнює дані щодо препаратів, які сьогодні застосовуються для антифунгальної терапії, та сполук, перспективних для створення нових антимікотиків.

Для клінічного застосування з метою лікування пацієнтів з мікозами в Україні рекомендовані препарати системної та місцевої дії, які належать до полієнових антибіотиків, азолів, аліламінів, ехінокандинів, гризанів та інші.

На етапах доклінічного та клінічного дослідження знаходяться перспективні нові сполуки, причому пошук та розробка проводяться як у межах відомих класів (азолів, полієнів, ехінокандинів), так і серед представників інших хімічних груп. Зокрема, на різних стадіях впровадження перебувають похідні оротомідів (F901318), бензогідразидів (BHBM, D0), цефексоксибів (AR-12), ариламідів (T-2307), ніккомицинів (SP-920704), солдаринів (GM-193663, GM-237354) та ін. Важливими особливостями нових сполук є досить широкий спектр антифунгальної активності, здатність інгібувати ріст та розмноження резистентних до офіційних антимікотиків штамів грибів та нові механізми дії, що забезпечуватиме більш повільний розвиток стійкості до них у разі впровадження в клінічну практику.

Представлений аналіз даних літератури свідчить про актуальність розробки препаратів антифунгальної дії на основі представників відомих та нових хімічних класів та висвітлює основні перспективи антифунгальної хіміотерапії.

Ключові слова: гриби, кандидози, мікози, антифунгальні засоби

Н. А. Врынчану

Кандидоз. Проблемы и перспективы антифунгальной терапии (часть II)

Обзор литературы обобщает данные о препаратах, которые используются в антифунгальной терапии в настоящее время, и о соединениях, перспективных для создания новых антимикотиков.

Для клинического использования в Украине рекомендованы препараты системного и местного действия, которые относятся к полиеновым антибиотикам, азолам, аллиламинам, эхинокандинам, гризанам и другие. На этапах доклинического и клинического исследования находятся перспективные новые соединения, причем поиск и разработка проводятся как в известных классах (азолы, полиены, эхинокандины), так и среди представителей других химических групп. В частности, на разных стадиях внедрения находятся производные оротомидов (F901318), бензогидразидов (BHBM, D0), цефексоксибов (AR-12), ариламидов (T-2307), никкомицинов (SP-920704), солдаринов (GM-193663, GM-237354) и др. Важными особенностями новых соединений являются достаточно широкий спектр антифунгальной активности, способность ингибировать рост и размножение резистентных к официальным антимикотикам штаммов грибов и новые механизмы действия, что обеспечит более медленное развитие устойчивости к ним при внедрении в клиническую практику.

Представленный анализ данных литературы свидетельствует об актуальности разработки препаратов антифунгального действия на основе представителей известных и новых химических классов и отражает основные перспективы антифунгальной химиотерапии.

Ключевые слова: грибы, кандидозы, микозы, антифунгальные средства

N. O. Vrynchanu

Candidiasis. Challenges and prospects of antifungal therapy (part II)

The review summarizes information about current antifungal agents and promising compounds for development of novel antimycotics.

Approved in Ukraine drugs for antifungal therapy include systemic and topical polyenes, azoles, allylamines, echinocandins, grisanes and medications of other classes.

Research and development of new perspective compounds (preclinical and clinical trials) are carried out in known classes (azoles, polyenes, echinocandins) and in other chemicals groups as well. Particularly, orotomide (F901318), benzohidrazide (BHBM, D0), celecoxib (AR-12), arylamide (T-2307), nikkomycin (SP-920704), soldarin (GM-193663, GM-237354) derivatives are on different stages of investigation now. The important advantages of new compounds are broad-spectrum antifungal activity, potency against resistant strains and new mechanisms of action, which will ensure a slower development of resistance to them after medicines' approval for clinical practice.

The presented review indicates a need of antimycotic drug development in the field of well-known and novel chemical classes and reflects further progress of antifungal chemotherapy.

Key words: fungi, candidiasis, mycoses, antifungal agents

Надійшла: 14 лютого 2017 р.

Контактна особа: Вринчану Ніна Олексіївна, доктор медичних наук, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ, буд. 14, вул. Е. Потьє, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 78 62. Електронна пошта: ninaoleks@yandex.ua

А. И. Соловьев

Миогенная автоматия и базальный тонус сосудов (клеточные осцилляторы как фармакологические мишени в терапии сосудистых заболеваний)

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

Не то, что мните вы, природа:
Не слепок, не бездушный лик –
В ней есть душа, в ней есть свобода,
В ней есть любовь, в ней есть язык.
Ф. И. Тютчев

Ключевые слова: базальный тонус, гладкие мышцы, миогенная автоматия, гликолитический осциллятор

Под сосудистым тонусом принято понимать состояние длительно поддерживаемого возбуждения гладких мышц, которое проявляется в соответствующей интенсивности их сократительной активности и не сопровождается развитием утомления. Последнее отнюдь не означает, что уровень тонического напряжения сосудов есть величина постоянная и не изменяется. Влияние на него оказывают многочисленные факторы, способные усиливать или ослаблять сократительную активность сосудистых гладких мышц (ГМ). Поскольку природа процессов, вызывающих и поддерживающих эту активность, до конца не выяснена, тонус сосудистой стенки обычно представляется, в основном, как итог интеграции сокращений большого числа входящих в ее состав гладкомышечных клеток, в том числе и обладающих авторитмической активностью.

Следует также напомнить, что регуляция кровотока обеспечивается комплексом центральных (нейрогенных) и местных (гуморальных и миогенных) механизмов. Иными словами, контроль за уровнем кровотока обеспечивается двумя основными контурами регуляции. Денервация того или иного сосу-

дистого региона приводит к быстро развивающемуся расслаблению сосудов и падению давления в зоне денервации, но уже спустя 20–40 мин нормальное кровоснабжение тканей полностью восстанавливается. То есть, местные механизмы регуляции в состоянии обеспечить адекватные адаптивные реакции сосудистого русла в ответ на изменение уровня притока крови и метаболизма и в отсутствии нейрогенного контроля.

Цель исследования – попытка разобраться в том, что лежит в основе миогенной ауторегуляции сосудов и какова природа так называемого базального сосудистого тонуса.

Ауторегуляция кровотока. Под ауторегуляцией (саморегуляцией или миогенной регуляцией) кровотока понимают тенденцию к сохранению его величины в органах сосудов при изменениях притока или оттока крови. Конечно, это совсем не значит, что при значительных и резких изменениях артериального давления (например, при перепадах до 100–200 мм рт. ст.) органический кровоток будет сохраняться постоянным. Суть ауторегуляции в том, что сдвиги артериального давления всегда вызывают меньшие изменения кровотока, чем это могло бы быть в пассивно-эластической, например, резиновой трубке.

Давно известно, что миогенная ауторегуляция кровотока наиболее выражена и эффективна в сосудах почек и

мозга (изменения давления в этих сосудах почти не вызывают сдвигов кровотока), несколько меньше она проявляется в сосудах кишечника, умеренно эффективна в миокарде, относительно мало эффективна в сосудах скелетных мышц и совсем слабо выражена в ткани легких.

Есть несколько основных теорий, объясняющих механизмы формирования основных местных сосудистых реакций, реактивной и рабочей гиперемии, и ауторегуляции кровотока в целом: 1) миогенная, в соответствии с которой тонус сосудов является функцией внутрисосудистого давления. В ее основе лежит способность ГМ сосудов сокращаться в ответ на повышение давления (феномен Остроумова-Бейлисса); 2) метаболическая теория (тонус сосудов есть функция кровотока), объясняющая степень сокращения ГМ сосудов влиянием сосудодилататорных веществ, выделяющихся в кровоток в процессе метаболизма; 3) теория тканевого давления, предполагающая влияние на тонус сосудов внесосудистого тканевого давления, обусловленного сдвигами капиллярной фильтрации жидкости при изменении давления в сосуде [1].

Миогенная автоматия. Анализ результатов многочисленных исследований свидетельствует о том, что ни один из известных факторов, способных воздействовать на сосудистые ГМ извне, не может рассматриваться как раздражитель, обеспечивающий формирование тонуса сосудов в полном его объеме. В частности, это касается и изменений трансмурального давления. Обращает на себя внимание тот факт, что общим признаком для ГМ сосудов сопротивления (характеризующихся, как считают, наиболее выраженным базальным тонусом) является присущая им авторитмическая сократительная активность в виде чередующихся спонтанных фазных сокращений или так называемая автоматия. «Автоматией называется способность клеток проявлять специфическую активность (для мышц – цикл сокращение-расслабление) под влиянием раздражений, возникающих в них самих, а не под воздействием извне» [2], то есть: авторит-

мическая активность осуществляется при полном отсутствии нервных и гуморальных влияний, действующих извне. Излюбленные объекты физиологов для изучения автоматии – сердце и воротная вена. Но авторитмическая активность присуща и ГМ пищеварительного тракта, малого таза и, что особенно для нас важно, практически всем сосудам малого диаметра, так называемым сосудам сопротивления. Механизмы авторитмической активности ГМ до сих пор остаются «твердым орешком» современной физиологии. Но знать их нужно обязательно. Другого пути к обеспечению клиники эффективными средствами фармакологического контроля сосудистого тонуса и уровня артериального давления просто не существует.

Отступление 1. Мой долг вспомнить о людях, чьи исследования легли в основу современных представлений о регуляции сосудистого тонуса. В самом начале моей студенческой и научной активности жизнь сделала мне два бесценных подарка. Георгий Павлович Конради и Владимир Михайлович Хаютин – два столпа советской, тогда еще, физиологии и биофизики кровообращения. Два очень не простых в общении человека. С Владимиром Михайловичем меня познакомил мой первый и безвременно трагически погибший научный руководитель – Юрий Михайлович Смирнов, а Георгию Павловичу я решил написать по собственной инициативе. Бесценный дар эпистолярного и личного общения. Я не был в числе их студентов, они не читали мне лекции. Один из них жил в Ленинграде, другой – в Москве, я – в Оренбурге. Они просто научили меня думать. Следить за ходом мысли В. М., понимать сказанное и что-то, хотя-бы связанное, иногда говорить в ответ, было невозможно трудно. Иногда мне казалось, что еще немного и у меня задымится голова. С Г. П. было немного проще, он хотя бы давал время подумать. Но глубина, широта и оригинальность его мышления были ничуть не меньше. Счастлирое время! Первые мысли о природе базального тонуса сосудов появились у меня еще во время переобуче-

ния из врача в биофизика в ЦОЛИУ (г. Москва) на кафедре физиологии, биофизики и медицинской кибернетики под руководством выдающегося ученого, профессора Вячеслава Александровича Шидловского в далеком теперь 1975 году. Идея о возможной роли в этом процессе гликолитического осциллятора пришла и окончательно укрепилась в последующие годы, уже во время работы в Институте физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины (1978–1993 гг.). Удивительно, что впервые оценил эту гипотезу человек, казалось бы, далекий от непосредственного изучения ГМ, но обладавший широчайшим научным кругозором и даром предвидения, – академик В. В. Фролькис. Честно говоря, не самая плохая получилась компания единомышленников. Книга В. М. Хаютина «Сосудодвигательные рефлексы» [3], а затем и вышеупомянутая монография Г. П. Конради «Регуляция сосудистого тонуса» [2] надолго стали моими настольными книгами. И если первую из них, честно говоря, я осилил с определенным трудом, то вторая просто стала для меня всей моей жизнью. Я до сих пор уверен, что это лучшие книги по физиологии кровообращения на русском языке, в которых рассмотрены все основные проблемы регуляции кровотока, начиная с центральных рефлекторных механизмов (В. М. Хаютин) и заканчивая местной регуляцией (Г. П. Конради). Уже потом, намного позже, во время работы в Швеции были беседы со Стефаном Мелландером (Stefan Mellander) и Бьерном Фолковым (Bjorn Folkow), встречи на конференциях с удивительно доброжелательным ко мне президентом американской ассоциации кардиологов, советником НАСА Джоном Шефердом (John Shepherd) из клиники Мэйо, США. Но это были уже разговоры почти на равных, основа была заложена раньше.

Базальный тонус сосудов. Итак, сосуды, лишенные нервных и гуморальных влияний, как оказалось, после короткой паузы способны восстанавливать уровень тонического напряжения и сохранять способность нормально функционировать и оказывать сопро-

тивление кровотоку (то есть механизм Остроумова-Бейлисса работает исправно). Денервация сосудов скелетных мышц увеличивает кровоток в них примерно в два раза, но последующее введение ацетилхолина в кровоток вызывает в этой сосудистой области десятикратное увеличение кровотока, свидетельствующее о сохраняющейся в этом случае способности сосудов к вазодилатации. Все это я сам видел много раз, когда работал в Оренбурге над своей кандидатской диссертацией, посвященной последствиям артериальной и венозной окклюзии в скелетных мышцах.

Для обозначения и объяснения этой особенности денервированных сосудов было введено понятие «базальный тонус» сосудов. Предполагалось, что базальный тонус сосудов складывается из структурных и миогенных факторов. Структурная часть создается благодаря жесткому сосудистому каркасу, образованному коллагеновыми волокнами, который определяет сопротивление сосудов, если активность их ГМ полностью выключена. Миогенная же часть базального тонуса обеспечивается напряжением ГМ сосудов, развивающимся в ответ на растягивающее усилие артериального давления. Следовательно, изменения сопротивления сосудов под влиянием нервных или гуморальных факторов накладываются на базальный тонус (модулируют его), который для определенной сосудистой области в нормальных условиях более или менее постоянен и представляет собой, по аналогии с радиосигналом, некую «несущую частоту». В условиях, когда нервные и гуморальные влияния отсутствуют, сопротивление сосудов кровотоку определяется только базальным тонусом.

В соответствии с предложенной В. Folkow [4] гипотезой, базальный тонус сосудов формируется путем интеграции ритмических фазных сокращений множества гладкомышечных клеток (ГМК), а его регуляция осуществляется путем изменения частоты, длительности и амплитуды этих фазных сокращений. На основе анализа фазных сокращений одиночных ГМК он заключил, что

сопротивление кровотоку определяется соотношением между суммарной длительностью периодов ее сокращения и расслабления. Увеличение частоты фазных сокращений, вызванное, в частности, растяжением, приводит к уменьшению суммарной длительности периодов расслабления клетки, и отношение длительности периодов сокращения к длительности периодов расслабления повышается, и сопротивление кровотоку возрастает. При достаточно высоких частотах фазных сокращений возможна их временная суммация со слиянием в тоническое сокращение. Если непосредственные контакты между ГМК отсутствуют (например, в метартериолах и прекапиллярных сфинктерах), ритмические фазные сокращения таких клеток обычно не синхронизированы. В этом случае возможна пространственная суммация фазных сокращений отдельных клеток. В артериолах, стенка которых в большинстве случаев обладает непрерывным гладкомышечным слоем, ритмическая сократительная активность, генерируемая клетками-пейсмекерами, как правило, синхронизирована. Поскольку число и локализация пейсмекеров могут быть различными, возможна как временная, так и пространственная суммация фазных сокращений большого числа клеток с развитием в итоге тонического напряжения ГМ.

Логичность и убедительность предложенной Б. Фолковым гипотезы формирования и регуляции базального тонуса сосудов такова, что вот уже на протяжении более чем 50 лет она без существенных изменений остается широко признанной. Тем не менее, за последние годы накопились некоторые факты, объяснить которые только на основе этой гипотезы затруднительно.

Результаты выполненных нами в отделе физиологии кровообращения Института физиологии имени А. А. Богомольца экспериментов [5] привели к мысли, что базальный тонус сосудов формируется не только исключительно благодаря суммации фазных сокращений большого числа ГМК. Ведь если в основе базального тонуса лежит только ритмическая сократительная актив-

ность клеток сосудистых ГМ, остается неясным, за счет чего после подавления фазных сокращений продолжает поддерживаться исходный уровень тонического напряжения. Это же соотношение возникало при анализе данных, представленных другими авторами [6]. Было показано, что после добавления к буферному раствору верапамила, блокирующего способность генерировать потенциалы действия и фазные сокращения, сохраняется тоническая реакция ГМ воротной вены на норадреналин, которая составляет не менее 40–50 % от реакции, наблюдавшейся до добавления кальциевого антагониста.

Существование разновидностей сосудистых ГМ, отличающихся по сократительным свойствам в покое и по-разному реагирующих на стимуляцию, не вызывает сомнений. Так, Golenhofen [7, 8] по признаку выраженности миогенной автоматии, подразделял ГМ сосудов на три группы: а) ГМ, клетки которых ритмически активны и не дифференцированы по свойствам возбуждения и проведения; б) ГМ, клетки которых ритмически активны, но часть из них генерирует возбуждение, а другие осуществляют функцию проведения; в) ГМ, клетки которых в нормальных условиях ритмической активностью не обладают и активируются преимущественно нейрогенно. Есть основания полагать, что такого рода отличия определяются не только спецификой нейроэффекторной и функциональной организации гладкомышечного слоя стенок различных отделов сосудистого русла, но и особенностями, присущими входящим в их состав клеткам. Так, было показано, что клетки сосудистых ГМ, характеризующихся фазной сократительной активностью, содержат не более 2,2 % (от суммарного объема цитоплазмы) саркоплазматического ретикулума [9], тогда как в клетках ГМ, генерирующих тонические сокращения, его вдвое больше – до 5,0 % [10]. Очевидно, в связи с этим, что и зависимость сократительных реакций от внеклеточной концентрации ионов кальция в них также должна быть различной.

Клетки ритмически активной сосудистой ГМ, в отличие от тонически сокращающейся, по-видимому, обладают механизмом, который обеспечивает удаление свободного Ca^{2+} из цитоплазмы со скоростью и в ритме, соответствующими частоте фазных сокращений. Имеется в виду механизм, подобный тому, что обеспечивает диастолическое расслабление сердечной мышцы и четкую корреляцию сокращения и расслабления миокарда. Иначе трудно объяснить механизм формирования фазных сокращений при достаточно высокой частоте их чередования, наблюдающейся в ритмически активных сосудистых ГМ.

Есть также основания утверждать, что трансмембранные механизмы увеличения концентрации ионов кальция в цитоплазме ГМК существенно отличаются. Так, Golenhofen [6, 7], основываясь на разной чувствительности фазных и тонических сокращений ГМ к удалению ионов кальция из перфузата и изучении влияния на уровень тонического напряжения различных блокаторов кальциевого тока, выдвинул концепцию о фазной (Р-система) и тонической (Т-система) системах активации сокращений в ГМ, в том числе и сосудистых. Причем он полагает, что ГМ дифференцируются по преимущественному числу входящих в их состав клеток, в которых преобладает Р- или Т-система активации.

Сама идея о возможной дифференциации ГМ сосудов по механизму сопряжения возбуждения и сокращения в их клетках не нова. Известна точка зрения [10, 11] об электромеханическом и фармакомеханическом сопряжении, суть которой сводится к наличию в мембранах клеток ГМ сосудов не только электровозбудимой, но и хемовозбудимой систем кальциевой проницаемости. По принятой впоследствии терминологии, это соответствует двум типам кальциевых каналов: быстрым потенциалозависимым и медленным хемочувствительным, то есть активируемым взаимодействием хеморецепторов мембраны с медиаторами или другими физиологически активными веществами. В начале 1980-х

М. Ф. Шубой [12] было выдвинуто предположение о наличии в мембранах ГМК так называемых медленных потенциал-зависимых и неинактивирующихся или слабо инактивирующихся кальциевых каналов. Очень интересная мысль, получившая впоследствии подтверждение в виде открытия так называемых оконных токов (window currents). От быстрых потенциалозависимых эти каналы отличала чувствительность к блокаторам кальциевого тока, отсутствие или слабая выраженность процессов инактивации, а также иные пороги активации. По мнению М. Ф. Шубы, в сосудистых ГМ, обладающих базальным тонусом, медленные потенциалозависимые, как и хемочувствительные, кальциевые каналы стационарно находятся в активированном состоянии, а поступающий по ним в цитоплазму Ca^{2+} способствует поддержанию базального тонуса сосудистой стенки. Он полагал, что именно плотность соответствующих типов каналов в мембранах ГМК, главным образом, определяет свойственный им механизм трансмембранного входа ионов кальция в цитоплазму и тем самым особенности их сократительных свойств.

Наконец, были получены любопытные данные, свидетельствующие об отличиях клеток, входящих в состав гладкомышечного слоя одного и того же сосуда. С помощью метода внутриклеточного отведения потенциалов показано [13, 14], что большей части ГМК воротной вены свойственна ритмическая электрическая активность в виде медленных волн деполяризации амплитудой до 10 мВ и длительностью порядка 3,0–3,5 с, на вершине которых регистрируются потенциалы действия амплитудой 15–17 мВ. Мембранный потенциал таких клеток не превышал 20–25 мВ, а сопротивление мембраны порядка 3–5 МОм. Наряду с этим выявлены клетки, не обладающие ритмическими изменениями уровня поляризации мембраны. В отличие от ритмически активных клеток, они характеризуются более высоким мембранным потенциалом (30–50 мВ) и сопротивлением мембраны – до 50–80 МОм.

Представленные данные, с нашей точки зрения, служат основанием для признания того, что в состав сосудистой ГМ входят как клетки, способные генерировать преимущественно фазные сокращения, так и клетки, обладающие способностью сокращаться преимущественно тонически.

Возможность дифференциации мышечных клеток по функциональному признаку не столь уж неожиданна. Так, ни у кого не вызывает сомнений, что в состав скелетных мышц входят так называемые белые (быстрые, фазные) и красные (медленные, тонические) мышечные волокна, по преимуществу содержанию которых выделяют красные и белые скелетные мышцы. Быстрые фазные волокна способны развивать значительные усилия в сравнительно небольшие отрезки времени. Тонические мышцы сокращаются примерно вдвое медленнее фазных и, хотя в итоге они развивают сравнимое по величине напряжение на единицу поперечного сечения, темп расхода энергии у фазных волокон скелетной мышцы намного выше. Эти особенности сочетаются с заметными отличиями структуры и, особенно, метаболизма двух типов волокон скелетных мышц.

Если исходить из представления о существовании дифференциации клеток сосудистой ГМ по функциональному признаку, то формирование базального тонуса сосудов нельзя свести исключительно к интеграции фазных сокращений множества ГМК, хотя участие этого механизма, может даже и определяющее, несомненно. В то же время, нельзя полностью согласиться и с представлениями, согласно которым в основе базального тонуса сосудов лежит исключительно только тоническое сокращение, связанное с непрерывным поступлением в цитоплазму ионов кальция, обеспечиваемым находящимися стационарно в активированном состоянии медленными потенциалзависимыми и хемочувствительными кальциевыми каналами [12].

Очевидно, следует признать, что базальный тонус сосудов включает два компонента, наличие которых, как можно предположить, обусловлено

существованием двух разных в функциональном отношении типов ГМК. Кстати, Г. П. Конради [2], придерживаясь мнения, что миогенная автоматия является наиболее вероятным механизмом формирования базального тонуса сосудов, писал, что «...это не исключает допущения о возможном существовании иного, не тетанического по своей природе, непрерывистого сократительного процесса».

Представление о базальном тонусе сосудов как о состоянии, определяющимся двумя компонентами – формирующимся интеграцией ритмических фазных сокращений ГМК и обусловленном активностью клеток, сокращающихся преимущественно тонически – позволяет объяснить результаты исследований, свидетельствующих о способности ГМ сосудов поддерживать определенный уровень тонического напряжения при условии резкого ослабления или даже полного отсутствия фазных сокращений.

Основываясь на большей, судя по полученным нами и данным литературы, чувствительности ритмических фазных сокращений к внешним воздействиям, можно думать, что обусловленный их интеграцией компонент базального тонуса является относительно менее стойким. Возможно, что именно этот компонент участвует в сравнительно быстрых изменениях сосудистого сопротивления, происходящих в процессе приспособления кровоснабжения к текущему уровню функциональной активности органов и тканей.

Проблемы современной фармакотерапии сосудистых заболеваний. Эффективность современной фармакотерапии в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы за последние 40–50 лет практически не изменилась, составляя в лучшем случае (при соблюдении всех принципов доказательной медицины) < 60 %. Несмотря на наличие огромного арсенала лекарственных средств, заболеваемость и смертность от последствий артериальной гипертензии постоянно растет. Пациенты вынуждены принимать лекарственные препараты при гипертонической болезни пожизненно, так как при их отмене болезнь, со всей

ее симптоматикой, неизбежно возвращается. По сути дела, большинство лекарственных препаратов в настоящее время играют роль своеобразных «фармакологических костылей». Забрали «костыли» и человек падает.

Качество жизни больных гипертонической болезнью в настоящее время, бесспорно, стало выше, но улучшилось ли качество лечения, вопрос спорный. Существует множество антигипертензивных препаратов. Однако парадоксальным образом, с учетом всех положительных и негативных проявлений их действия, по обобщенным данным американских СМИ лучшими являются простые мочегонные препараты (диуретики). Да, они отличаются исключительно симптоматическим действием и не избавляют от самой сосудистой патологии, но они эффективно снижают кровяное давление (по крайней мере, в начальных стадиях заболевания) благодаря тому, что способствуют выведению через почки избытка жидкости и солевых соединений. Таким образом, уменьшается нагрузка на сердце, что, в свою очередь, приводит к понижению артериального давления. То есть, механизм их действия сходен с кровопусканием (еще более древним методом лечения), так как в обоих случаях снижается объем циркулирующей крови. Многочисленные исследования показали, что диуретики эффективно и в то же время безопасно воздействуют на организм и, в ряде случаев, успешно справляются с гипертонией. Лекарства этой группы особенно широко используют для лечения пожилых пациентов, которым противопоказаны многие современные гипотензивные препараты. Мочегонные средства можно применять при сердечной недостаточности и при остеопорозе – заболеваниях, распространенных среди пожилых пациентов.

Диуретики лучше, чем многие другие лекарства от высокого артериального давления, помогают при лечении гипертонии у пациентов с нарушениями метаболизма. Известно, что люди с повышенным артериальным давлением и нарушением метаболизма больше подвержены риску возникновения таких сердечно-сосудистых нарушений,

как ишемическая болезнь, сердечные аритмии, нарушения мозгового кровообращения и т. п. Так, в одном из исследований приняли участие 42 418 пациентов с артериальной гипертонией и с дополнительными факторами риска. Пациенты получали один из следующих препаратов: диуретик хлороталidon, блокатор кальциевых каналов амлодипин, альфа-блокатор доксазозин, ингибитор АПФ лизиноприл. Каждое лекарство использовалось в начальной стадии лечения, другие препараты добавлялись при необходимости контроля артериального давления. Большинство пациентов исследовали в среднем около 5 лет, но альфа-блокаторная часть испытаний была завершена в среднем уже после 3 лет из-за увеличения количества сердечно-сосудистых осложнений. Среди исследовавшихся пациентов почти половина имели признаки метаболического синдрома, который определяли как повышенное артериальное давление в сочетании с, по меньшей мере, двумя следующими факторами: диабет или предиабет, индекс массы тела (BMI) не менее 30, высокий уровень триглицеридов или низкий уровень липопротеина высокой плотности («хорошего» холестерина). Пациенты с метаболическим синдромом, принимавшие диуретики, имели более низкий уровень нарушений в работе сердца, чем те, кто принимал три других препарата. Пациенты, которые принимали ингибитор АПФ и альфа-блокатор, имели повышенный риск развития сосудистых осложнений. В результате было показано, что увеличивающийся риск сердечно-сосудистых заболеваний и коронарной патологии свидетельствует против заявленных ранее преимуществ ингибиторов АПФ над диуретиками, как первоначальной терапии у пациентов с нарушениями метаболизма. Исследования не подтвердили преимущество использования альфа-блокаторов, ингибиторов АПФ или блокаторов кальциевых каналов над диуретиками для предотвращения сердечно-сосудистых или почечных нарушений у пациентов с нарушениями метаболизма, несмотря на их более благоприятные метаболические харак-

теристики. В определенной мере эти данные являются показателем кризиса современной фармакотерапии гипертонической болезни.

Итак, мы хорошо научились устранять симптомы болезни, то есть, видимую часть айсберга. Почему мы так поступаем? Потому, что по-другому быть и не может, так как мы не знаем, как формируется основа артериального давления – базальный тонус сосудов. Вы же не полезете в мотор любимого авто, не зная его устройства. В лучшем случае можете только протереть его тряпкой снаружи. Вы доверите серьезную работу специалисту. Но проблема в том, что как формируется базальный тонус, не знает никто. И как теперь его лечить. Поступили просто – лечить будем то, что лежит на поверхности – симптомы, то есть нужно снижать давление. Кто бы с этим спорил? Вот только делать это можно по-разному, то есть на разных уровнях сложнейшей иерархической структуры системы регуляции сосудистого тонуса, основу которого составляет базальный тонус.

Есть две основные причины такого положения дел в фармакотерапии – генетический полиморфизм (эту проблему решить довольно просто) и, главное, отсутствие достоверной информации о надлежащем образом идентифицированных фармакологических мишенях (клеточных и субклеточных структурах), являющихся главными триггерами патологического процесса. Иными словами, вопреки телевизионной рекламе, современное лекарство далеко не всегда точно попадает в цель. Мы просто не знаем, что именно нужно лечить.

Если вернуться к эпиграфу статьи, то возникает еще один вопрос, правильно ли мы понимаем «язык природы» (в данном случае, симптомы болезни), и если да, то правильно ли переводим его в понятные нам термины? Судя по результатам деятельности практической медицины, вряд ли. В какой-то степени побеждены инфекции, радуют успехи хирургов, но радость побед омрачается отсутствием реальных успехов у терапевтов и появлением новых, не менее страшных заболеваний.

Отступление 2. Какой смысл мы вкладываем в термины лечение, терапия (греч. *θεραπεία* – лечение, оздоровление) – это процесс, целью которого является облегчение, снятие или устранение симптомов и проявлений того или иного заболевания, патологического состояния или иного нарушения жизнедеятельности, нормализация нарушенных процессов жизнедеятельности и выздоровление, восстановление здоровья.

Получается, что конечным результатом этого процесса является не устранение самой причины заболевания, а всего лишь минимизация его проявлений, то есть, симптомов.

Если это так, то тогда становится понятным, почему несмотря на интенсивные исследования и наличие огромного количества новых антигипертензивных препаратов, гипертоническая болезнь, например, и ее осложнения продолжают доминировать среди основных причин смертности трудоспособного населения. Несмотря на декларируемые успехи в лечении, показатели смертности и инвалидности при гипертонии практически не снижаются. К счастью, эта болезнь достаточно легко диагностируется, но зато, увы, не очень хорошо лечится. С прекращением приема препаратов артериальная гипертензия, как правило, возвращается. Лечиться приходится всю оставшуюся жизнь, то есть, смысл лечения сводится к банальному улучшению качества жизни, что само по себе не так уж и плохо (если еще и не обращать внимание на побочное действие лекарств). Не плохо, если задача вылечить не ставится. Подчеркиваю, не только лечить, но и вылечить. Получается, что сам процесс важнее, фармфирмы производят лекарства, больные покупают, симптоматика уходит, прибыли растут – всем, вроде бы, хорошо.

Итак, в практике лечения сердечно-сосудистых заболеваний пока еще практически отсутствуют препараты направленного (таргетного) действия. Что делать? Проблему генетического полиморфизма в настоящее время можно было бы решить довольно просто (современная наука позволяет сделать

это), но это потребует от государства огромных дополнительных капиталовложений в медицину. Пока это по разным причинам представляется не реальным.

Поэтому сосредоточим свое внимание на фармакологических мишенях. Появление таргетных препаратов станет возможным только после детального изучения механизмов взаимодействия потенциального лекарственного препарата с его фармакологической мишенью. Но для этого мишень еще необходимо идентифицировать в процессе детального изучения патогенеза заболевания на клеточном и молекулярном уровне. Только таким образом нам удастся в будущем реализовать мечту Пауля Эрлиха о «магической пуле» и перейти к низкодозовой таргетной фармакотерапии. А пока еще мы «стреляем» в мишень, а уже потом рисуем круг, принимая место попадания за центр.

Почему это так важно, точно идентифицировать молекулу-мишень? Потому, что только в таком случае обеспечивается гарантия доставки «письма адресату» и снижение числа и выраженности побочных эффектов. Повторюсь еще раз, только таким образом, изучив взаимодействие лекарственного препарата с идентифицированной надлежащим образом молекулой-мишенью, можно будет говорить о низкодозовой таргетной терапии.

Конечно, базальный тонус, сам по себе, не может быть фармакологической мишенью. Тем более, что мы пока еще плохо понимаем, что это, собственно говоря, такое. Вот отдельные клеточные и молекулярные структуры, ответственные за его формирование, ими (мишенями) могут быть вполне. Какие же это структуры и механизмы?

Потенциальными фармакологическими мишенями клетки могут быть: рецепторы (и связанные с ними ионные каналы), ионные каналы и помпы/насосы клеточных мембран, митохондрии (в том числе митохондриальные поры и ионные каналы митохондрий), сократительный аппарат мышечных клеток, саркоплазматический ретикулум, например, лиганд (IP_3) – управле-

мые кальциевые каналы ретикулума, ферментативные системы клетки, гены (практический пример – генная терапия при артериальной гипертензии, внедрение копий генов, ответственных за вазодилатацию, или использование так называемых антисмысловых РНК для подавления трансляции или транскрипции генов, ответственных за продукцию вазоконстрикторов).

Большая проблема заключается еще и в том, что «фармакологическая мишень» так же неисчерпаема, как «атом». Как только исследователь установит, что мишенью является, например, АТФ-зависимый калиевый канал, как встанет вопрос о том, какая именно его субъединица является мишенью и т. д., и т. п.

Что же еще мешает прогрессу в развитии таргетной терапии болезней. Как это не покажется парадоксальным, мы до сих пор не можем определиться с самим термином «болезнь».

Отступление 3. Что такое болезнь? Антоним этого слова – здоровье – состояние любого живого организма, при котором он в целом и все его органы способны полностью выполнять свои функции; отсутствие недуга, болезни или в шуточной форме, состояние, когда еще есть силы не ходить к врачу.

Заболевание обычно определяется – как «возникающие в ответ на действие патогенных факторов нарушения нормальной жизнедеятельности, работоспособности, продолжительности жизни организма и его способности адаптироваться к постоянно изменяющимся условиям внешней и внутренней среды при одновременной активизации защитно-компенсаторно-приспособительных реакций и механизмов. Болезнь – это состояние организма, выраженное в нарушении его нормальной жизнедеятельности, продолжительности жизни, и его способности поддерживать свой гомеостаз, что является следствием ограниченных энергетических и функциональных возможностей живой системы в противопоставлении патогенным факторам».

Определение, прямо скажем, еще более туманное и неопределенное, чем определение здоровья.

Так что же такое болезнь? Наказание богов, как считали древние? Состояние, при котором нарушается правильное смешение основных элементов и жидкостей человеческого тела (Гален), конфликт между внутренней средой человека и влиянием внешних болезнетворных факторов (Алкомен, Кротон, позднее Сиденхем)? Или же болезнь приходит извне с микробами (Пастер). В 1851 году Клод Бернар писал: «...Здоровье человека и его болезненное состояние в основе своей не имеют большой разницы, как об этом думали в прежнее время и как это считают некоторые наши современники-врачи. Не следует понимать здоровье и болезнь как два противоположных полюса, две воюющие стороны. Это устаревшие и отживающие свой век взгляды. В действительности между двумя состояниями – здоровьем и болезнью – есть очень незначительная разница. Преувеличение, диспропорция, дисгармония нормальных явлений в организме составляют его болезненное состояние. Нет ни одного верифицированного случая, где болезнь была бы причиной появления новых условий, где она сменила бы полностью «декорации» и создала бы новые «специфические вещества». Иными словами, идея в том, что болезнь по существу является ничем иным, как отклонившейся в сторону нормальной физиологической активностью».

Известный французский ученый и хирург Рене Лериш пришел к выводу, что болезнь «не является простым морфологическим изменением тканей, хотя именно благодаря им она часто и распознается. Нельзя сказать, что болезнь является ненормальным состоянием, вызванным отклонением физиологической деятельности, вызванным морфологически определяемым патологическим изменением тканей. Нельзя также сказать, что болезнь является функцией человека, то есть самого больного, так как больной может и не знать, что он болен. Может быть, болезнь есть совокупность симптомов? Но для больного заболевание это одно, а для врача – часто совсем другое».

Любая болезнь начинается с неосязаемых нарушений местного функцио-

нального равновесия (первая фаза). Известный специалист-онколог сэр Канневай писал: «Все больше и больше приходится убеждаться, что раковые заболевания подготавливаются нашими организмами в течение большей части нашей жизни. Эта подготовка происходит за счет частых нарушений питания, нарушений гормональной функции, всевозможных излишеств, интоксикаций, инфекций и паразитарных инвазий, а также повторных травм».

Во второй стадии болезни появляются морфологические изменения, пока еще без клинических проявлений, которые затем обнаруживаются при рентгенологическом обследовании или на вскрытии.

И, наконец, наступает третья фаза болезни, когда она ощущается самим больным.

Так как человеку обычно свойственно ощущать себя центром вселенной, то у него часто создается ложное впечатление, что все, что происходит, обращается вокруг него. Когда человек заболевает, то он думает, что природа и его организм организуют для него защиту против нависшей над ним угрозы. У него создается впечатление, что он оказался полем боя между некими злыми силами и защитным инстинктом организма.

Мы часто делаем прогноз заболевания с расчетом на так называемые защитные силы организма, но при этом мы базируемся на наших собственных желаниях и опасениях, подменяя действительно существующее тем, чем оно кажется.

На самом деле, наши ткани нас просто «игнорируют». Они живут своей собственной жизнью, по линии, указанной их наследственностью, и их нисколько не «интересуют» цели, поставленные перед собой человеком, то есть, живут своей самостоятельной вегетативной жизнью. Нам пора избавиться от детских представлений, господствующих в медицинской науке, и изучать патологию так, словно мы и не заинтересованы лично в изучаемом вопросе, то есть, объективно.

В ряду научных дисциплин, без знания которых эффективная терапия

заболеваний невозможна, физиология и патофизиология стоят на первом месте. Причина этого проста – эффективное лечение в подавляющем большинстве случаев невозможно без знания патогенеза заболевания.

Интересно отметить, что слово «Физиология», написанное по-китайски, состоит из 3 иероглифов – жизнь, логика и изучение. Оно может быть переведено как «Изучение логики жизни».

И. П. Павлов в свое время прозорливо писал, что будущая физиология будет физиологией клетки. Мы с вами уже живем в этом времени, а некоторые из нас занимаются этой самой физиологией клетки. Давно известно, что любой живой организм представляет собой сообщество различных клеток. Тело человека, например, состоит из приблизительно 100 трлн собственных клеток плюс неисчислимое множество (квадриллионы?!) бактерий, населяющих пищеварительный тракт. Клетки, являясь структурной и функциональной составляющей тканей и органов, контактируют с тканевой жидкостью, лимфой и плазмой крови и, очевидно, поэтому каждая клетка окружена (защищена) плазматической мембраной – оболочкой толщиной 7–10 нм, которая образована двойным молекулярным слоем, состоящим в основном из фосфолипидов и встроенных в него интегральных белков.

В плазматическую мембрану действительно встроено множество белковых структур. В клеточной мембране находятся рецепторы, воспринимающие внешние химические сигналы и обеспечивающие «общение» клетки с клетками-соседями как близкими, так и далекими. Мембрану пронизывают также активные и пассивные транспортные комплексы, с помощью которых клетка обменивается веществом со своим окружением. В частности, среди них имеются так называемые ионные каналы, поры, образуемые трансмембранными белками, через которые ионы пассивно диффундируют в направлении меньшей концентрации. Обычно эти поры пропускают лишь определенные ионы, такие как калий, натрий, кальций и хлор.

Некоторые из ионных каналов сопряжены с собственными рецепторами.

Таким образом, в живых системах постоянно происходит сопряженный перенос вещества и информации через клеточные мембраны. Например, растворимая в липидах (липофильная) сигнальная молекула монооксида азота (NO) проходит через клеточную мембрану и активирует внутриклеточный «рецептор» (растворимую гуанилатциклазу), что приводит, в частности, к расслаблению сосудов и увеличению кровотока. Другая сигнальная молекула ацетилхолин, связываясь с М- или Н-холинорецепторами, приводит к освобождению NO из эндотелиальных клеток (ЭК) и расслаблению подлежащих ГМК сосудов или же к сокращению ГМ, в том случае, когда медиатор действует прямо на ГМК (в случае повреждения эндотелиальной выстилки), снижению частоты сердечных сокращений. Передача сигнала может также происходить через рецепторы, активирующие тот или иной внутриклеточный посредник (ангиотензин, cAMP, cGMP, IP₃, DAG).

Как же работает вся эта чрезвычайно важная система регуляции и почему мы ее так плохо знаем? Основная причина нашего малознания в этой области – чрезвычайная сложность изучаемых систем регуляции. Представьте себе систему, состоящую всего из 10 элементов, но каждый элемент которой способен влиять на каждую из 90 межэлементных связей. Так вот, такая система может находиться в 290 состояний! Немыслимо огромная величина.

Итак, мы имеем дело с очень сложными вероятностными системами, обладающими способностью к самоорганизации. В биологии долгое время господствовала ошибочная точка зрения, что живые системы отличаются внутренней уравновешенностью. На самом деле «живая клетка представляет собой сложную организованную систему, которая в термодинамическом отношении бесконечно невероятна и может находиться в этом состоянии лишь до тех пор, пока может быть использована свободная энергия для поддержания этой организации» ([15].

Спустя еще 6 лет Эрвином Бауэром [16] был сформулирован «принцип устойчивого неравновесия» термодинамической организации всего живого. По его мнению живые системы характеризуются следующим: 1) наличием свободной энергии, разряжающейся спонтанно без внешнего воздействия (авторитетическая активность!); 2) способностью отвечать на внешнее воздействие, выравнивающее градиент энергии, восстановлением этого градиента (то есть, свойствами раздражимости и возбудимости); 3) накоплением свободной энергии путем работы против факторов, ведущих к равновесному состоянию.

Иными словами, «все и только живые системы никогда не бывают в равновесии и исполняют за счет своей свободной энергии постоянно работу против равновесия, требуемого законами физики и химии при существующих внешних условиях» [16].

Автоколебательные процессы в биологических системах. Химикам хорошо известна реакция Белоусова-Жаботинского – класс химических реакций, протекающих в колебательном режиме, при котором некоторые параметры реакции (цвет, концентрация компонентов, температура и др.) изменяются периодически, образуя сложную пространственно-временную структуру реакционной среды. В настоящее время под этим названием объединяется целый класс родственных химических систем, близких по механизму, но различающихся используемыми катализаторами (Ce^{3+} , Mn^{2+} и комплексы Fe^{2+} , Ru^{2+}), органическими восстановителями (малоновая кислота, броммалоновая кислота, лимонная кислота, яблочная кислота и др.) и окислителями (броматы, иодаты и др.).

Отступление 4. Борис Павлович Белоусов проводил исследования цикла Кребса, пытаясь найти его неорганический аналог. В результате одного из экспериментов в 1951 году, а именно окисления лимонной кислоты броматом калия в кислотной среде в присутствии катализатора – ионов церия Ce^{+3} , он обнаружил автоколебания. Течение реакции менялось со временем, что

проявлялось периодическим изменением цвета раствора от бесцветного (Ce^{+3}) к желтому (Ce^{+4}) и обратно. Эффект еще более заметен в присутствии индикатора ферроина. Сообщение Белоусова об открытии было встречено в советских научных кругах скептически, поскольку считалось, что автоколебания в химических (не живых!) системах невозможны. Статью Белоусова дважды отклоняли в редакциях ответственных журналов, поэтому опубликовать результаты исследований колебательной реакции он смог только в сокращенном виде спустя 8 лет в ведомственном сборнике, выходившем небольшим тиражом. Впоследствии эта статья стала одной из самых цитируемых в данной области, а реакция получила название реакции Белоусова. Дальнейшее развитие исследований этой реакции произошло, когда профессор Симон Эльевич Шноль предложил своему аспиранту, в будущем лауреату Ленинской премии, Анатолию Марковичу Жаботинскому исследовать механизм реакции. От приглашения проводить совместные исследования Белоусов отказался, хотя вроде бы выразил удовлетворение тем, что его работа будет продолжена. Группа Жаботинского провела подробные исследования реакции, включая ее различные варианты, а также разработала первую математическую модель. Основные результаты были изложены в 1974 году в книге А. М. Жаботинского «Концентрационные автоколебания» [17].

Итак, стало ясно, что основными характеристиками любого автоколебательного процесса являются следующие: 1) автоколебательные процессы устанавливаются за счет явлений внутри системы; 2) амплитуда автоколебаний зависит только от свойств самой системы; 3) автоколебательные процессы возможны только вдали от точки равновесия; 4) причиной автоколебательных процессов является наличие большого числа взаимодействующих элементов и обратных связей между ними; 5) автоколебательные процессы всегда устойчивы, отклонения всегда затухают. В живых системах автоколебания встречаются сплошь и рядом, и

именно они могут быть потенциальным субстратом автоматии.

Потенциальные субстраты автоматии. Одним из первых кандидатов на роль генератора ритмической активности в ГМ могли бы быть интерстициальные клетки Кахаля (англ. Interstitial cell of Cajal; ICC; от лат. Interstitium – промежуток) – названные в честь крупнейшего испанского нейробиолога, нобелевского лауреата Сантьяго Рамон-и-Кахаля (1852–1934), описавшего их в 1893 году. Рамон-и-Кахаль считал, что обнаруженные им клетки являются особыми элементами интрамуральных нервных сплетений, ответственными за моторику желудочно-кишечного тракта. Электрофизиологические доказательства роли этих клеток в установлении ритма медленных волн ГМ желудка и кишечника были получены в начале XXI века [18].

Интерстициальные клетки Кахаля задают ритм сокращений (перистальтики) полых органов желудочно-кишечного тракта. Они также имеются в мочевых путях, мочевом пузыре, мочеточниках, в предстательной железе, в области порталных трактов печени, желчном пузыре и желчных протоках, фаллопиевых трубах, миометрии, молочной железе и, что для нас особенно важно, в стенках артерий и лимфатических сосудов.

Интерстициальные клетки Кахаля имеют вытянутую веретеновидную форму. Длина клеток – от 40 до 100 мкм, толщина – 0,2–0,5 мкм. У клеток Кахаля имеется от 2 до 5 отростков длиной от нескольких десятков до сотни мкм, некоторые из отростков имеют вторичное и третичное ветвление, образуя трехмерную сеть. Отростки содержат в своем составе специфические тонкие фибриллоподобные сегменты и расширенные цистерноподобные участки.

Являясь водителями ритма, они играют ключевую роль в активации и координации фазных и распространяющихся сокращений. Другой функцией этих клеток служит контроль за передачей возбуждающих и тормозных нервных импульсов ГМК. Интерстициальным клеткам Кахаля, расположен-

ным между циркулярным и продольным мышечными слоями и составляющим синцитиум с ГМК, принадлежит важнейшая роль в регуляции двигательной активности кишечника и чувствительности к механическим раздражителям. Сеть клеток Кахаля начинается с проксимальных отделов желудка и их скопление в теле желудка рассматривают как водитель ритма верхних отделов пищеварительной системы. Клетки Кахаля контактируют с варикозными терминалями аксонов нервных клеток и мембранами ГМК, модулируют передачу нервных импульсов к мышечным волокнам. В то же время они чувствительны к механическим стимулам. Растяжение стенок желудка при приеме пищи вызывает деполяризацию мембраны и появление медленноволновой активности привратника. По-видимому, это лежит в основе гастроколического рефлекса, который выражается в появлении позыва к дефекации через 20–30 минут после завтрака.

Но наиболее известная роль интерстициальных клеток Кахаля – это генерация медленных волн потенциалов в ГМ органов пищеварительного тракта. Особо стоит отметить, что задаваемые частоты в разных органах разные, и этот факт является центральным в диагностике моторных расстройств ЖКТ с использованием электрогастроэнтерографии. Интерстициальные клетки Кахаля задают частоты медленных волн – от 2–4 до 10–12 в 1 мин.

Параметры колебаний, задаваемые интерстициальными клетками Кахаля, отличаются устойчивостью. Они не изменяются под влиянием ацетилхолина, гистамина, адреналина, атропина, прокаина, морфина, кокаина, но генераторная функция клеток Кахаля зависит от активности циклооксигеназы-2: при подавлении этого фермента они становятся нечувствительными к растяжению.

Точное месторасположение интерстициальных клеток Кахаля – пейсмейкеров неизвестно. Считается, что пейсмейкер желудка находится в проксимальной (ближней к пищеводу) части желудка, а для тонкой кишки, вероят-

но, в области впадения общего желчного протока в двенадцатиперстную кишку. Однако при удалении участка желудка или кишечника всегда появляется пейсмейкер, являющийся водителем ритма для нижележащих частей органа.

Некоторые исследователи считают термин «интерстициальные пейсмейкерные клетки» (ИПК) более современным и более корректным, оставляя за термином «интерстициальные клетки Кахаля» или более узкое, или только историческое значение. В то же время, в современной гастроэнтерологии более распространен термин «интерстициальные клетки Кахаля». Новая классификация (разделяемая не всеми) была предложена Т. Комуро [19]. В ее основу легли ультрамикроскопические особенности строения этих клеток в сравнении с фибробластами и ГМК, на основании чего он подразделил их на 2 группы: интерстициальные клетки Кахаля и фибробластоподобные клетки. Фибробластоподобные клетки имеют ряд выраженных морфологических отличий: присутствие хорошо развитой гранулярной эндоплазматической сети, малое число митохондрий, отсутствие базальной мембраны и кавеол. В свою очередь, клетки Кахаля подразделяют на 3 типа. К типу I относят клетки Кахаля с наименее выраженным сходством с ГМК; к типу III – клетки Кахаля с наиболее выраженным сходством с ГМК. Тип II – промежуточный, представлен клетками Кахаля, имеющими признаки клеток типа I и III.

В зависимости от глубины расположения в мышечной стенке клетки Кахаля имеют различные морфологические характеристики. Так, клетки Кахаля Ауэрбахова сплетения представлены тремя (I–III) типами, в то время как среди клеток Кахаля глубокого межмышечного нервного сплетения преобладают клетки типа III. Клетки, находящиеся внутри циркулярного и продольного мышечного слоя стенки кишки, имеют по 2 отростка с ориентацией вдоль оси кишечника, а у клеток, расположенных рядом с Ауэрбаховым и глубоким межмышечным нервным сплетением, наблюдают от 3 до 5

отростков с характерным типом ветвления: на вторичное, третичное и более высокого порядка.

Все клетки Кахаля морфологически отличаются от ГМК и, скорее всего, представляют собой особые специализированные водители ритма. ГМК представляют собой самостоятельный сократительный элемент, обладающий встроенным сенсором растяжения и триггером электрической активности. Дело в том, что любую ГМК при определенных условиях можно заставить сокращаться авторитмично. Заблокируйте калиевые каналы выходящего тока в ГМ аорты (тонический тип) и вы будете наблюдать авторитмическую активность, что совсем не свойственно для нее в нормальных условиях. То есть, если в патологических условиях в ГМ сосудистой стенки по той или иной причине блокируются выходящие токи (или активируются входящие), то число клеток с авторитмической активностью может резко увеличиться.

Исторически принято было различать ГМ тонического и фазного типа [6, 7, 20]. Выделяют два крайних по своим электрическим и сократительным характеристикам типа ГМ – для одного характерен низкий и нестабильный мембранный потенциал, наличие спонтанно генерируемых потенциалов действия и фазных сокращений (фазный тип). Примером может служить воротная вена. Для другого типа ГМ (тонического) спонтанная активность не свойственна. Они реагируют на стимуляцию градуальной деполяризацией с медленным нарастанием уровня напряжения, причем часто без заметного изменения величины мембранного потенциала (фармакомеханическое сопряжение). Примером могут служить ГМ легочной артерии и аорты. Их плазматическая мембрана обладает в несколько раз более низкой проводимостью для ионов натрия, калия и хлора, а также более значительным сопротивлением, чем мембрана клеток воротной вены. По мнению Golenhofen в состав ГМ входят как клетки, способные генерировать преимущественно фазные сокращения, так и клетки тонического типа. Преобладание того или иного

типа клеток и определяет свойственную ГМ способность сокращаться фазно или тонически.

Вазомоции. Предполагается, что вазомоции (ритмические сокращения сосудов, не связанные с ритмической деятельностью сердца, дыханием или нервными влияниями) играют существенную роль в обеспечении тканей кислородом в норме и при патологических состояниях, имеют важное значение для контроля артериального давления, а их выраженность снижается при ряде патологий, например, при диабете [21].

Одно из наиболее подробных исследований в области изучения вазомоций, подводящее нас к проблеме базального тонуса, было представлено Matchkov [22]. Он считает, что эта сосудодвигательная реакция реализуется благодаря взаимодействию между внутриклеточным кальцием, освобождающимся из саркоплазматического ретикулума, и изменениями мембранного потенциала. Ритмические изменения внутриклеточного кальция, по его мнению, вызывают при наличии достаточной концентрации цГМФ изменения мембранного потенциала, активирующие электрически соединенные клетки ГМС и приводящие к развитию синхронизированной фазной активности. То есть, синхронная деполяризация ГМС вызывает такой же синхронный приток кальция и, таким образом, приводит к ритмичным сокращениям кровеносных сосудов [23–25].

Заслуга Matchkov состоит еще и в том, что он идентифицировал и описал хлорные каналы в сосудистых ГМ, которые обладают свойствами, необходимыми для синхронизации сокращений ГМК в сосудистой стенке. До этого хлорные каналы исследовались уже в течение многих лет, но оставались, как бы в тени катионных каналов. Сейчас активно обсуждается роль конкретной группы хлоридных каналов, так называемых кальций-зависимых хлорид активируемых каналов (CaCCs). CaCCs идентифицированы в сосудистой ткани, но пока в основном на функциональном уровне [26]. К сожалению, пока еще нет фармакологических средств, кото-

рые активировали бы или, наоборот, ингибировали CaCCs со какой-либо значительной селективностью [27].

На основании изучения ионных токов с использованием patch-clamp метода в ГМС был идентифицирован хлорный ток с уникальными свойствами [22]. Этот хлорный ток активируется цГМФ, обладает очень высокой чувствительностью к кальцию и может быть ингибирован низкими концентрациями ионов цинка, в то время как традиционные ингибиторы CaCCs, влияют на этот ток только при очень высоких концентрациях. Этот cGMP-зависимый, кальций-активируемый хлорный ток имеет линейную потенциалзависимость, которая отличается от аналогичной зависимости для CaCCs, что обычно характерно для анионной проводимости. Данный вид токов был обнаружен в клетках кишечника, сосудистых ГМ, выделенных из ряда многих сосудистых бассейнов, но не был обнаружен в легочной артерии. На основе его уникальных характеристик было высказано предположение о том, что именно кальций-активируемый, cGMP-зависимый ток хлора может синхронизировать ГМК в сосудистой стенке и что молекулярным субстратом для этого тока может служить белок *bestrophin*. *Bestrophin* сначала был идентифицирован как ген, мутации которого вызывают вителлиформную макулярную дистрофию (VMD) или болезнь Беста [26]. Есть основания считать, что именно *bestrophin* является хлоридным каналом [28].

Похоже, что Matchkov был первым, кто связал хлорный ток с одной из четырех известных изоформ белка *bestrophin*. ПЦР и Вестерн-блот исследования различных кровеносных сосудов показали наличие белка *bestrophin-3* во многих сосудах, за исключением легочных артерий (где цГМФ-зависимый ток тоже отсутствует). Это убедительное свидетельство того, что *bestrophin-3* необходим для формирования цГМФ-зависимого кальций-активируемого тока ионов хлора.

Наличие электрической связи между клетками ГМС имеет важное значение для успешной их синхронизации и

существенно зависит от функционирования каналов между клетками, называемых щелевыми соединениями. Многие сердечно-сосудистые заболевания (гипертония и атеросклероз) связаны с дефектами в межклеточных связях и коммуникациях. Исследования с использованием блокаторов щелевых соединений, так называемых *gap-junction*, гептанола и 18 α -глицирретиновой кислоты, 18 β -глицирретиновой кислоты и миметиков коннексина во многих случаях это подтверждают.

Matchkov [22] также предположил, что каналы и активные переносчики ионов в мембране клетки не функционируют независимо друг от друга, а взаимодействуют как функциональные единицы. Продемонстрирована тесная функциональная взаимосвязь между щелевыми контактами, Na^+ , K^+ -АТФ-азой, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменником и АТФ-зависимыми K^+ каналами, причем происходит это в определенных ограниченных пространственных компартментах клетки. Было показано, что ингибирование оубаином Na^+ , K^+ -АТФ-азы тормозит выход кальция с помощью $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника и это приводит к локальному повышению внутриклеточного кальция и ингибированию межклеточных коммуникаций. Обнаружено также, что АТФ-зависимые K^+ каналы являются важными игроками в этом функциональном блоке. Этот эффект является взаимным, так как K^+ канал обеспечивает Na^+ , K^+ -АТФ-азу ионами K^+ , в то время как АТФ-зависимые K^+ каналы, в свою очередь, также влияют на активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы.

Очень интересный механизм формирования авторимической активности был предложен Siegel [29] – он основывается на том, что осцилляции активности фосфофруктокиназы-1 (то есть, гликолиза) приводят к осцилляциям концентрации АТФ и, соответственно, активности Na^+ , K^+ -АТФ-азы (то есть, ионной помпы). Электрогенная деятельность натриевой помпы приводит к осцилляциям мембранного потенциала, который распространяется на соседние клетки. Это предположение подтверждается тем фактом, что аппликация

оубаина легко блокирует вазомоции.

Регуляция и контроль в живых системах. Миогенная автоматия ГМ как пример автоколебаний в нелинейных живых системах. Сейчас немного информации об общих принципах регуляции в живых системах. Живые системы – это всегда открытые термодинамические системы, постоянно обменивающиеся веществом, энергией и информацией со средой, причем обмен веществом, энергией и информацией происходит и между частями (подсистемами) системы. Для живых систем характерны также отрицательная энтропия (увеличение упорядоченности) и способность к самоорганизации.

Динамические процессы в биологических системах, их самоорганизация, устойчивость и переходы из стационарного состояния в нестационарное обеспечиваются различными механизмами саморегуляции. Саморегуляция – это внутренне присущее свойство биологических систем автоматически поддерживать на некотором необходимом уровне параметры протекающих в них процессов. Биологи называют это гомеостазом, хотя правильнее было бы говорить о гомеокинезе, так как все так называемые константы (параметры) организма являются «плавающими», то есть динамическими константами.

Все живые системы органического мира организованы иерархически и представлены большим количеством уровней структурно-функциональной организации, как, например, система регуляции артериального давления. На каждом уровне складываются свои специфические механизмы саморегуляции, основанные, как правило, на принципе обратной связи, когда отклонение некоторого параметра от необходимого уровня приводит к «включению» функций, которые ликвидируют дисбаланс, возвращая данный параметр к нужному уровню. В случае отрицательной обратной связи знак изменения противоположен знаку первоначального отклонения, а при положительной обратной связи знак изменения совпадает со знаком отклонения; при этом система выходит из одного стационарного состояния и

переходит в другое. Так бывает, например, при болезни, когда формируется так называемый порочный круг. Это свойство позволяет биологическим системам пребывать в различных стационарных состояниях и, с одной стороны, функционировать в определенных отношениях независимо от среды, а с другой – адаптироваться к среде при соответствующих условиях.

Кроме стационарных, биологические системы, как уже указывалось выше, имеют и автоколебательные состояния, когда значения параметров колеблются во времени с определенной амплитудой. Такие состояния являются основой периодических биологических процессов, биологических ритмов, биологических часов и др.

Вообще говоря, большинство систем Вселенной носит открытый характер, а это значит, что во Вселенной доминируют не стабильность и равновесие, а неустойчивость и неравновесность. Именно вследствие этого Вселенная оказывается способной к развитию, эволюции, самоорганизации. Стабильные и равновесные системы не способны к самоорганизации, они являются тупиками эволюции. Отсюда мое неприятие часто встречающегося в нашей литературе термина «стабилизация» мембран. Стабилизация, отсутствие градиентов означает не что иное, как смерть клетки.

Неравновесные системы благодаря избирательности к внешним воздействиям среды воспринимают различия во внешней среде и «учитывают» их в своем функционировании. При этом некоторые слабые воздействия могут оказывать большее влияние на эволюцию системы, чем воздействия, хотя и более сильные, но не адекватные собственным тенденциям системы. Иначе говоря, на нелинейные системы не распространяется принцип суперпозиции: здесь возможны ситуации, когда эффект от совместного действия причин А и В не имеет ничего общего с результатами воздействия А и В по отдельности – это, очевидно, главное отличие нелинейных систем, в которых как раз и могут возникать незатухающие колебания, в том числе и интересующая нас авторитетическая активность.

Процессы в нелинейных системах часто носят пороговый характер – при плавном изменении внешних условий поведение системы изменяется скачком (вспомним, например, развитие потенциала действия при достижении критического уровня деполяризации). Другими словами, в состояниях, далеких от равновесия, очень слабые возмущения могут усиливаться до гигантских волн, разрушающих сложившуюся структуру и способствующих ее радикальному качественному изменению (примером может служить положительная обратная связь или, как говорят врачи, «порочный круг» развития болезни, то есть, саморазгоняющийся и самоускоряющийся патологический процесс). Для каждой системы существует некий оптимальный «коридор нелинейности», способствующий структурообразованию. Очень сильная нелинейность, так же, как и очень слабая, несовместима с образованием локальных структур. Зато в пределах только оптимального «коридора» усиление нелинейности увеличивает количество способов образования и форм локальных структур, а также количество вариантов эволюции системы, ее маршрутов в будущее. Вот уж, воистину, что занадто, то не здраво!

Именно нелинейные системы, являясь неравновесными и открытыми, сами создают и поддерживают неоднородности в среде. В таких условиях между системой и средой могут иногда создаваться отношения обратной положительной связи, то есть, система влияет на свою среду таким образом, что в среде вырабатываются условия, которые в свою очередь обуславливают изменения в самой этой системе. Последствия такого рода взаимодействия открытой системы и ее среды могут быть самыми неожиданными и необычными, в том числе и развитие патологических состояний (так называемый порочный круг).

Самоорганизующиеся системы – это обычно очень сложные открытые системы, которые характеризуются огромным числом степеней свободы. Однако далеко не все степени свободы системы одинаково важны для ее функционирования. С течением времени в системе выделяется

небольшое количество ведущих, определяющих степеней свободы, к которым «подстраиваются» остальные. Так, кстати, ведут себя в культуре неонатальные кардиомиоциты – подстраиваются под частоту сокращения более активных «соседей» по культуральной среде. Такие основные степени свободы системы получили название аттракторов. Аттракторы характеризуют те направления, в которых способна эволюционировать открытая нелинейная среда. Иначе говоря, аттракторы – это те структуры, по направлению к которым протекают процессы самоорганизации в нелинейных средах. Для наглядной иллюстрации понятия аттрактора часто используют образ конуса «воронки», который втягивает в себя траектории эволюции нелинейной системы.

Ритмическая клеточная активность играет важную роль в регуляции жизненных функций. В сократительных системах, таких как сердце и ГМ, регулярные осцилляции мембранного потенциала ответственные за поддержание насосной функции и надлежащего уровня тонического напряжения, обеспечивающего моторику или перфузию тканей. Предполагается существование двух основных типов клеточных осцилляторов – во-первых, это цитоплазматические осцилляторы – гликолитический, митохондриальный и, возможно, связанные с ним осцилляции внутриклеточного кальция $[Ca]_i$. Во-вторых – мембранные осцилляторы, в основе действия которых лежат циклические изменения мембранного потенциала. Эти изменения мембранного потенциала могут быть связаны с циклической работой Na^+/K^+ -насосов или же с изменениями ионной проводимости плазматической мембраны. Основная проблема идентификации все та же – что запускает и поддерживает циклическую работу ионных насосов? Каким образом изменения ионной проводимости, приводящие к деполяризации клеточной мембраны, сменяются на процессы, способствующие реполяризации?

Для ионных Na^+/K^+ -насосов существует объяснение, связанное с обеспечением их энергией из гликолитического

осциллятора. Триггером для переключения двух основных ионных проводимостей (калиевой и натриевой), определяющих уровень мембранного потенциала и, соответственно, выходящего и входящего тока, может служить уровень внутриклеточной концентрации кальция. Ионы кальция, как и ионы натрия, определяют величину входящего тока, тогда как ионы калия формируют выходящий ток. Открытие калиевых каналов приводит к гиперполяризации мембраны, а когда они закрыты, мембрана деполяризуется и начинает пропускать внутрь ионы кальция. Когда уровень деполяризации достигает определенного значения, калиевые каналы открываются вновь и процесс циклически повторяется. В реальности этот процесс, конечно, намного сложнее, так как каналов (калиевых, кальциевых, хлорных, натриевых) идентифицировано уже великое множество и их кинетические параметры и параметры активации и инактивации существенно отличаются. Тем не менее, в целом картина примерно такая, как описано выше.

Я не стал бы ставить знака равенства между вазомоциями, то есть спонтанными или вызванными ритмическими сокращениями сосудов и миогенной автоматией, то есть состоянием, внутренне присущим ГМК и лежащим в основе базального тонуса. Тем не менее, изучение вазомоций позволило пролить свет на некоторые механизмы автоматии.

Роль гликолиза в клеточных осцилляциях. Все колебания, связанные с наличием устойчивых предельных циклов, называются автоколебаниями. По виду они подразделяются на квазигармонические (синусоидальные или близкие к ним; так, например, сокращаются сосуды пупочного канатика человека) и релаксационные (произвольной структуры – воротная вена крысы). Для возникновения автоколебаний необходимы источник энергии (гликолиз?) и наличие механизма обратной связи, который регулирует поступление энергии в систему в зависимости от фазы колебаний.

Возникновение устойчивых незатухающих колебаний – фундаментальное

- осцилляций метаболизма;
- осцилляций мембранной проницаемости;
- осцилляций деятельности Na^+ , K^+ -насосов.

Суммарное уравнение гликолиза можно представить следующим образом:



Для ГМ сосудов характерным является высокий уровень гликолитических реакций даже в условиях достаточной оксигенации. При этом АТФ, синтезируемый в ходе гликолиза, идет непосредственно на обеспечение функционирования Na^+ , K^+ -АТФ-аз [30, 31], то есть, на электрогенез, в то время как энергия АТФ, образующаяся в ходе окислительного метаболизма, идет на обеспечение сократительной функции ГМ. При этом компартменты ГМК, в которых протекают процессы гликолиза и глюконеогенеза, четко разграничены [32]. Редокс-потенциалы этих компартментов поддерживаются в состоянии равновесия, и таким образом цитоплазматический потенциал NADH/NAD поддерживается стабильным, несмотря на изменения запросов в цитозольном компартменте Na-K-ATP -азы [33].

Нестабильность и осцилляции мембранного потенциала могут быть связаны с деятельностью цитоплазматических осцилляторов, то есть, обусловлены нестабильностью обменных процессов в клетке. Или все же это результат деятельности собственно мембранных осцилляторов, то есть, генерируется в мембране? Думаю, что такое деление, несомненно, весьма условно, так как колебания обменных процессов, безусловно, влияют на работу ионных каналов и насосов. Например, так работает гликолитический осциллятор,

впервые идентифицированный в дрожжевых клетках [34]. Важной особенностью такого осциллятора является его зависимость (чувствительность) от скорости поступления субстрата. Так, повышение концентрации глюкозы в свободной от клеток дрожжевой среде (экстракте) приводит к росту частоты осцилляций [35].

В более поздней работе [36] также изучалась причина осцилляций гликолиза в интактных дрожжах и экстрактах. Было установлено, что осцилляции гликолиза управляются включением/выключением фермента *phosphofructokinase*. В случае интактных дрожжей было обнаружено, что нестабильность, ведущая к появлению осцилляций, вызывается стехиометрией АТФ-АДФ-АМР системы и аллостерической регуляцией *phosphofructokinase*, в то время как частота осцилляций распределяется по всей системе. Важно отметить, что отношение NAD^+/NADH модулирует частоту модуляций, не влияя при этом на нестабильность системы. Это данные очень важны для понимания синхронизации осцилляций в отдельной дрожжевой клетке.

Изолированные митохондрии также демонстрируют осцилляторную активность [35]. Не вполне еще ясно, порождаются эти осцилляции внутренними митохондриальными или же внешними причинами, как это происходит, например, под влиянием пирувата с гликолизом. Во всяком случае, освобождение кальция из митохондрий под влиянием фосфоэнолпирувата наводит на мысль о связи митохондриальных осцилляций с гликолитическим осциллятором.

Согласно хемиосмотической гипотезе Митчелла, окислительное фосфорилирование приводится в действие установившимся протонным градиентом, образовавшимся вследствие выхода ионов водорода из матрикса митохондрий во время прохождения электронов по дыхательной цепи [37]. Этот протонный градиент затем используется либо для образования АТФ, либо для управления кальциевым гомеостазом. Если внутриклеточный уровень Ca^{2+} повышается сверх нормального «операционного» уровня, митохондрии спо-

собны даже частично переключаться с образования АТФ на транспорт Ca^{2+} . Естественно, что при этом уровень осцилляторной активности митохондрий будет падать, так как он сильно зависит от величины отношения АДФ/АТФ.

Когда митохондрии «заняты» регуляцией кальциевого гомеостаза, побочным результатом этого являются осцилляторные изменения внутриклеточного рН. Было установлено, что введение кальция в цитоплазму нейронов улитки *Helix* приводит к транзиторному снижению внутриклеточного рН с последующим восстановлением исходного уровня рН за счет удаления H^+ из клетки.

Что касается осцилляций мембранного потенциала, то они скорее всего связаны с флуктуациями в деятельности электрогенных Na^+/K^+ насосов плазматических мембран [38]. Это вопрос почти решенный. Проблема заключается в идентификации источника энергии и триггере осцилляций. Источник энергии, очевидно, гликолиз. Триггер – пока неизвестен.

С осцилляциями мембранного потенциала тесно связаны осцилляции мембранной проводимости. В целом, всякое увеличение выходящего (калиевого) тока приводит к гиперполяризации плазматической мембраны, снижению возбудимости и, соответственно, к торможению авторитмической активности. И, напротив, результатом увеличения входящего (натриевого, кальциевого) тока будет активация миогенной автоматии. Вот почему, если вы хотите получить авторитмическую активность в сосуде, обычно ее не проявляющем, просто добавьте в буферный раствор блокатор выходящего калиевого тока, то есть, сдвиньте баланс трансмембранного тока в сторону преобладания входящего тока.

Как может работать мембранный осциллятор? Исходное условие – мембранный потенциал должен поддерживаться в определенных пределах. Увеличение входящего тока приводит к деполяризации и компенсаторному увеличению выходящего тока, приводящему к реполяризации и т. д., и т. п.

Понятно, что такая схема работает только в том случае, если в ней задействованы электрогенные Na^+/K^+ -насосы, обеспечивающие восстановление ионных концентраций по обе стороны плазматической мембраны.

Еще один вопрос, каким образом происходят изменения калиевой, кальциевой и натриевой проницаемости? Роль своеобразного переключателя калиевой проницаемости может играть кальций. Входя из внеклеточного пространства или освобождаясь из внутриклеточных депо (саркоплазматический ретикулум, митохондрии), он, очевидно, обладает способностью включать кальций-зависимую калиевую проводимость. Отсюда следует, что все соединения, например, циклические нуклеотиды, влияющие на кальциевый гомеостаз, могут влиять и на процессы изменения калиевой проводимости.

Авторитмическая активность зарегистрирована в ГМ желудка, тонкого кишечника, мочеполового тракта и сосудистой системы. Спектр этой активности отличается очень существенно – от высокочастотной (около 1 сокращения в 1 с) до волн с частотой около 3–20 сокращений в 1 мин.

Медленные волны в ГМ, почти определенно, связаны с циклическими колебаниями активности Na^+/K^+ -насоса. Это достаточно просто доказывается тривиальными опытами с оубаином. Проблема может заключаться в выяснении причин такой цикличности. Тот факт, что флуоресценция NADPH колеблется в фазе с медленными волнами потенциала в интактных ГМ, безусловно, укладывается в эту концепцию. И, тем не менее, вслед за тем, не обязательно означает, вследствие того. Вполне вероятно, что Na^+ , K^+ -насосы чувствительны к изменениям внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и что прирост $[\text{Ca}]_i$ может способствовать временной инактивации насоса с последующей деполяризацией клеточных мембран. Активация Ca^{2+} -АТФ-аз плазматической мембраны и закачка кальция во внутриклеточные депо приводит к снижению $[\text{Ca}]_i$, реактивации Na^+/K^+ -насосов и восстановлению мембранного потенциала.

Итак, основным генератором колебаний может быть саркоплазматический ретикулум (СР), который периодически высвобождает кальций, ведущий к появлению регенеративных волн кальция. В присутствии циклического ГМФ (цГМФ), этот кальций также способен активировать хлорные каналы в плазматической мембране. Если эти токи активируются в достаточном количестве клеток, то они, клетки, будут деполяризованы. Кроме того, клетки, которые не являются активными в этот момент, также будут деполяризованы, потому что все клетки между собой электрически соединены. Деполяризация вызовет приток кальция через кальциевые каналы L-типа, который не только инициирует сокращение, но и высвобождение кальция в покоящихся клетках, таким образом, активируя их внутриклеточные осцилляторы. В результате, вероятность того, что достаточное количество клеток становятся активными одновременно, является очень высокой, то есть, клеточная активность синхронизируется.

Итак, есть основания считать, что базальный тонус сосудов в значительной степени формируется за счет ГМ «фазного» типа, обладающих высоким уровнем аэробного гликолиза и авторитмической активностью. Развитие гиперсократимости сосудов является следствием «пробуждения» «молчащих» клеток «тонического» типа вследствие снижения выходящего тока и перехода их в режим авторитмической активности. В результате суммации этих сокращений уровень базального тонуса увеличивается, что приводит к росту артериального давления.

Это означает, что любое снижение выходящего калиевого тока, вызванное теми или иными патологическими факторами, неизбежно должно приводить к повышению базального тонуса сосудов и развитию гиперсократимости. Что может служить триггером этого процесса? Уровень сократимости ГМ определяется величиной мембранного потенциала, который, в свою очередь, зависит от изменений калиевой проводимости. Существует 4 основных типа калиевых каналов – потенциал-зависи-

мые K^+ каналы (K_v), K^+ каналы входящего выпрямления (K_{IR}), АТФ-зависимые K^+ каналы (K_{ATP}) и Ca^{2+} -зависимые K^+ каналы большой проводимости (BK_{Ca}), которые кодируются геном *Slo1* (*KNCMA1*). Именно через последний тип каналов протекает большая (до 80 %) часть выходящего тока, что делает его основным модулятором сократительной активности ГМ в норме и при патологии.

Изучение функции сосудов при всех патологических состояниях, сопровождающихся развитием гиперсократимости сосудов – воздействию ионизирующей радиации [39–44], артериальной гипертензии [45] и развитии диабетических ангиопатий [46], – показало, что они характеризуются снижением уровня экспрессии BK_{Ca} ионных каналов и снижением выходящего тока, переносимого через калиевые каналы большой проводимости. При этом все фармакологические воздействия, такие как мезенхимальные стволовые клетки [42]), липосомальный кварцетин [41], РНК-интерференция [44–46], направленные на восстановление калиевой проводимости, сопровождалась нормализацией уровня сосудистого тонуса.

В последние годы нам повезло обнаружить новый, почти экзотический способ управления калиевыми каналами большой проводимости и, соответственно, уровнем мембранного потенциала с помощью плазмонных наночастиц золота [47, 48].

Роль эндотелия в формировании клеточных осцилляций. Роль эндотелия в формировании авторитмической активности существенна, по-видимому, в тех сосудах, где имеются отчетливо выраженные целевые контакты (*gap junctions*), то есть, там, где они служат для синхронизации осцилляций внутриклеточного кальция и проведения возбуждения от эндотелия к подлежащему мышечному слою. Недавно мы с И. Л. Мончаком обнаружили (не опубликованные данные), что удаление эндотелия приводит к исчезновению фазной активности, появляющейся в ГМ аорты крысы при активации их норадреналином. Этот феномен требует специального изучения.

В любом случае роль эндотелиальных клеток в формировании миогенной активности, по всей вероятности, не является определяющей, а скорее всего, они играют роль своеобразных модуляторов активности ГМК.

Роль ионных каналов и «оконные токи» (window currents). В электрофизиологии давно известно такое понятие, как каналы утечки. Это неуправляемые (независимые, «проточные») ионные поры в мембране клетки. Конечно, это название условно и отражает лишь основное функциональное состояние подобных каналов. Пожалуй, полностью независимых и неуправляемых ионных каналов в мембране просто не существует, и все они, так или иначе, регулируются. Тем не менее, так называемые «неуправляемые» каналы, как правило, находятся в постоянно открытом состоянии и обеспечивают постоянный ионный ток через открытую пору канала как в клетку, так и из клетки.

Процесс перемещения ионов через такие каналы идет пассивно за счет диффузии под действием химических сил (по градиенту их концентрации) и/или электрических сил (по электрическому градиенту зарядов между внутренней и наружной сторонами мембраны). Так работают, например, калиевые каналы утечки (они участвуют в формировании нервными клетками мембранного потенциала покоя), эпителиальные натриевые каналы (обеспечивают обратное всасывание ионов натрия в почках, прямой кишке, легких, потовых железах и пр., а также обеспечивают восприятие соленого вкуса вкусовыми рецепторами во рту), анионные каналы эритроцитов (они пропускают анионы Cl^- , OH^- , HCO_3^-).

Вообще говоря, именно калиевые и хлорные каналы, с их близкой к «омической» вольт-амперной характеристикой, казалось бы, должны быть главными кандидатами на роль каналов «утечки». Но эти каналы не бывают постоянно открытыми (если бы это было так, то их невозможно было бы идентифицировать в условиях регистрации токов через одиночные каналы). То есть, должен существовать вариант «утечки» через какой-то другой тип каналов.

В последние годы внимание исследователей вновь привлекли неинактивирующиеся, так называемые оконные токи (*window currents*). Они представляют собой другой, уже управляемый вариант «утечки», то есть постоянного притока ионов кальция в цитоплазму ГМК. В частности, такие токи через кальциевые каналы L-типа были недавно обнаружены в ГМК хвостовой артерии крыс при изучении гипотензивного действия ментола [49]. Попробуем разобраться, в чем же их отличие от классических каналов утечки и какова их роль в формировании базального тонуса?

Суть феномена «оконного» тока состоит в следующем. Как известно, потенциал-зависимые каналы открываются и закрываются благодаря изменениям потенциала мембраны. Если в эксперименте с регистрацией тока через кальциевые каналы вы начнете ступенчато смещать поддерживаемый потенциал в сторону активации, то получите зависимость проводимости для данного иона от величины потенциала, которая начинается от нуля и нарастает сигмоидально. Это будет кривая кинетики активации. Если же вы проделаете эту процедуру в обратном порядке, то вы получите кривую инактивации, которая начинается при максимально высоком уровне проводимости и снижается по сигмоиде. Эти две кривые пересекутся при некотором потенциале, и площадь ниже пересечения представит собой область (окно), где каналы будут постоянно открыты и с некоторой конечной вероятностью будут находиться в устойчивом открытом состоянии. Это и есть область «оконных» токов. Для ГМК хвостовой артерии это интервал потенциалов от -75 мВ до 0 (для других сосудов эти значения могут отличаться). Это означает, что через этот тип не инактивирующихся каналов протекает пусть небольшой (пиковое значение при -10 мВ порядка 10 пикоампер), но постоянный кальциевый ток,

обеспечивая, таким образом, приток кальция в миоплазму и поддержание уровня тонического напряжения ГМК.

Электрофизиологические характеристики кальциевых каналов L-типа в коронарных, мезентериальных и прочих артериях таковы, что их кривые активации и инактивации перекрывают друг друга в диапазоне -40 и -15 мВ, то есть очень близко к потенциалу покоя, который лежит в основном в диапазоне от -40 до -60 мВ. Таким образом, было доказано существование независимого от времени, но потенциал-зависимого и неинактивирующегося тока ионов кальция [50–55]. Изменяя величину мембранного потенциала в области этого так называемого «окна потенциалов», можно влиять на величину оконного тока и тем самым на вход ионов кальция и величину развиваемого ГМ базального тонического напряжения.

Кстати, оказалось, что и кальциевые каналы T-типа также проявляют постоянную устойчивую активность при уровнях мембранного потенциала близких к физиологическим, то есть, в области потенциала покоя [56] и, таким образом, также могут участвовать в поддержании тонического напряжения ГМ.

Вот, пожалуй, и все главное, что известно в настоящее время о природе базального тонуса. Было бы наивным думать, что результатом этого обзора станет сформированная окончательно гипотеза базального тонуса сосудов. В лучшем случае, мне хотелось, хоть в какой-то степени, упорядочить наши знания в этой области и привлечь к ней внимание специалистов из различных сфер науки – от математиков до физиологов, биохимиков и фармакологов. Проблема того стоит, поскольку проблема эта нобелевского уровня, а ее решение может кардинально изменить существующие принципы фармакологической коррекции сосудистого тонуса в условиях патологии.

1. Соловьев А. И. О механизмах регуляции тонуса сосудов скелетных мышц при кратковременных и длительных окклюзиях артерии / А. И. Соловьев // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. – 1973. – Т. 59, № 1. – Р. 88–98.
2. Конради Г. П. Регуляция сосудистого тонуса / Г. П. Конради. – Ленинград : Изд. Наука, 1973. – 328 с.

3. Хаютин В. М. Сосудодвигательные рефлексy / В. М. Хаютин. – Москва : Наука, 1964. – 376 с.
4. Folkow B. Description of the myogenic hypothesis / B. Folkow // *Circulat. Res.* – 1964. – V. 14/15, suppl. 1. – P. 279–287.
5. Берштейн С. А. О функциональной дифференциации клеток сосудистой гладкой мышцы и базальном тоне сосудов / С. А. Берштейн, М. И. Гуревич, А. И. Соловьев // *Физиол. журн.* – 1982. – Т. 8, № 5. – P. 571–577.
6. Golenhofen K. Theory of P and T systems for calcium activation in smooth muscle / K. Golenhofen // *Physiology of Smooth Muscles.* – New York : Raven, 1976. – P. 197–202.
7. Golenhofen K. Spontaneous activity and functional classification of mammalian smooth muscle / K. Golenhofen // *Physiology of Smooth Muscle.* – New York : Raven Press, 1976. – P. 91–97.
8. Golenhofen K. Spontaneous activity and functional classification of smooth muscle / K. Golenhofen // *Physiology of Smooth Muscles. Abstr. of Rep. Symp. XXVI Intern. Congr. Physiol.* – Kiev, 1974. – P. 45–46.
9. Devine C. E. Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscles / C. E. Devine, A. V. Somlyo, A. P. Somlyo // *J. Cell. Biol.* – 1972. – V. 52, № 3. – P. 690–718.
10. Somlyo A. P. Ultrastructural aspects of activation and contraction of vascular smooth muscle / A. P. Somlyo, A. V. Somlyo // *Fed. Proc.* – 1976. – V. 35. – P. 1288–1293.
11. Somlyo A. P. Vascular smooth muscle. 1. Normal structure, pathology, biochemistry and biophysics / A. P. Somlyo, A. V. Somlyo // *Pharmacol. Rev.* – 1968. – V. 20, № 2. – P. 197–272.
12. Шyба М. Ф. Пути и механизмы трансмембранного входа в гладкомышечные клетки ионов кальция, участвующих в активации сокращения / М. Ф. Шyба // *Физиол. журн.* – 1981. – V. 27, № 4 – P. 533–541.
13. Gurevich M. The effect of changes in osmolarity and oxygen tension on excitability and conduction in vascular smooth muscle / M. Gurevich, S. Bershteqin, Evdolomov // *Physiology of Smooth Muscle.* – New York : Raven Press, 1976. – P. 153–161.
14. Гуревич М. И. Дефицит кислорода в тканях и их кровоснабжение / М. И. Гуревич, С. А. Берштейн, А. И. Соловьев // *Успехи физиол. наук.* – 1981. – V. 12, № 4. – P. 77–98.
15. Hill A. V. Anaerobic survival in muscle / A. V. Hill // *Proc. Roy. Soc. B.* – 1929. – V. 105. – P. 298–313.
16. Бауэр Э. С. Теоретическая биология / Э. С. Бауэр. – Москва – Ленинград : Изд. ВИЭМ, 1935. – 206 с.
17. Жаботинский А. М. Концентрационные автоколебания / А. М. Жаботинский. – Москва : Наука, 1974. – 179 с.
18. Takaki M. Gut pacemaker cells: the interstitial cells of Cajal (ICC) / M. Takaki // *J. Smooth Muscle Res.* – 2003. – V. 39 (5). – P. 137–161.
19. Komuro T. Structure and organization of interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal tract / T. Komuro // *J. Physiol.* – 2006. – V. 576 (3).
20. Ozaki H. Different Ca^{2+} -Sensitivity in Phasic and Tonic Types of Smooth Muscles Neurosignals / H. Ozaki, H. Karaki. – 1993. – V. 2. – P. 253–262.
21. Aalkjaer C. Vasomotion: cellular background for the oscillator and for the synchronization of smooth muscle cells / C. Aalkjaer, H. Nilsson // *Br J. Pharmacol.* – 2005. – V. 144 (5). – P. 605–616.
22. Matchkov V. V. Mechanisms of cellular synchronization in the vascular wall Mechanisms of vasomotion / V. V. Matchkov // *Dan Med Bull.* – 2010. – V. 57. (10) B4191. – P. 1–50.
23. Activation of a cGMP-sensitive calcium-dependent chloride channel may cause transition from calcium waves to whole cell oscillations in smooth muscle cells / J. C. Jacobsen, C. Aalkjaer, H. Nilsson [et al.] // *Am J. Physiol.* – 2007. – V. 293 (1). – P. H215–H228.
24. A model of smooth muscle cell synchronization in the arterial wall / J. C. Jacobsen, C. Aalkjaer, H. Nilsson [et al.] // *Am J. Physiol.* – 2007. – V. 293 (1). – P. H229–H237.
25. Heterogeneity and weak coupling may explain the synchronization / J. C. Jacobsen, C. Aalkjaer, V. V. Matchkov [et al.] // *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* – 2008. – V. 366 (1880). – P. 3483–3502.
26. Hartzell C. Calcium-activated chloride channels / C. Hartzell, I. Putzier, J. Arreola // *Annu Rev Physiol.* – 2005. – V. 67. – P. 719–758.
27. Contractile agonists preferentially activate Cl^- over K^+ currents in arterial myocytes / Bakhramov A., Hartley S. A., Salter K. J., Kozlowski R. Z. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1996. – V. 227 (1). – P. 168–175.
28. Molecular evolution and functional divergence of the bestrophin protein family / Milenkovic V. M., Langmann T., Schreiber R. [et al.] // *BMC Evol Bio.* – 2008. – V. 8 (1). – P. 72.
29. Siegel G. Principles of vascular rhythmogenesis / Siegel G. // *Prog. Appl. Microcirc.* – 1983. – V. 3. – P. 40–63.
30. Paul R. J. Vascular smooth muscle: aerobic glycolysis linked to sodium and potassium transport processes / Paul R. J., Bauer M., Pease W. // *Science.* – 1979. – V. 21, № 206 (4425). – P. 1414–6.
31. Campbell and R. J. The nature of fuel provision for the Na^+, K^+ -ATPase in porcine vascular smooth muscle / Campbell and R. J. // *J. Physiol.* – 1992. – V. 447. – P. 67–82.
32. Vallejo J. and Hardin C. D. Metabolic organization in vascular smooth muscle: distribution and localization of caveolin-1 and phosphofructokinase / J. Vallejo and C. D. Hardin // *Am J. Physiol Cell Physiol.* – 2004. – V. 286. – P. C43–C54.

33. *Barron J. T.* NADH/NAD redox state of cytoplasmic glycolytic compartments in vascular smooth muscle / J. T. Barron, G. U. Liping and J. E. Parrillo // *Am J. Physiol Heart Circ Physiol.* – 2000. – V. 279. – P. H2872–H2878.
34. *Chance B.* Damped sinusoidal oscillations of cytoplasmic reduced pyridine nucleotides in yeast cells / B. Chance, R. W. A. Estabrook, A. Ghosh // *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.* – 1964. – V. 51. – P. 1244–1251.
35. *Boiteux A.* Oscillations in glycolysis, cellular respiration and communication Faraday Symp / A. Boiteux, B. Hess // *Chem. Soc.* – 1974. – V. 9. – P. 202–214.
36. *Mads F. Madsen, Sune Danø, Preben G Sørensen.* On the mechanisms of glycolytic oscillation in yeast // *FEBS J.* – 2005. – V. 272. – P. 2648–2660.
37. *Crompton M.* The Sodium-Induced Efflux of Calcium from Heart Mitochondria A Possible Mechanism for the Regulation of Mitochondrial Calcium / M. Crompton, M. Michela Capano, E. Crafoli // *Eur. J. Biochem.* – 1976. – V. 6Y. – P. 453–462.
38. *Connor J. A.* A study of pacemaker activity in intestinal smooth muscle / J. A. Connor, C. L. Prosser, W. A. Weems // *Journal of Physiology.* – 1974. – V. 240. – P. 671–701.
39. Ionizing non-fatal whole-body irradiation inhibits Ca^{2+} -dependent K^+ channels in endothelial cells of rat coronary artery: Possible contribution to depression of endothelium-dependent vascular relaxation / S. Tishkin, V. Rekalov, I. Ivanova [et al.] // *J. Radiat. Biol.* – 2007. – V. 83, № 3. – P. 161–169.
40. Functional and molecular consequences of ionizing irradiation on large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels in rat aortic smooth muscle cells / A. Soloviev, S. Tishkin, I. Ivanova [et al.] // *Life Sciences.* – 2009. – V. 84. – P. 164–171.
41. *Soloviev A.* Quercetin-filled phosphatidylcholine liposomes restore abnormalities in rat thoracic aorta BK_{Ca} channel function following ionizing irradiation / A. Soloviev, S. Tishkin, S. Kyrychenko // *Acta Physiol. Sinica.* – 2009. – V. 61 (3). – P. 201–210.
42. Electrophysiological and contractile evidence the ability of human mesenchymal stromal stem cells to correct vascular malfunction in rats after ionizing irradiation / A. Soloviev, I. Prudnikov, V. Tsyvkin [et al.] // *The J. of Physiol. Sci. (Japan).* – 2010. – V. 60 (2). – P. 161–172.
43. Protein kinase C-dependent inhibition of BK_{Ca} current in rat aorta smooth muscle cells following γ -irradiation / I. Kizub, O. Pavlova, I. Ivanova, A. Soloviev // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2010. – V. 86. – P. 291–299.
44. The BK_{Ca} channels deficiency as a possible reason for radiation-induced vascular hypercontractility / S. Kyrychenko, S. Tishkin, V. Dosenko [et al.] // *Vasc. Pharmacol.* – 2012. – V. 56. – P. 142–149.
45. Correction of vascular hypercontractility in spontaneously hypertensive rats using shRNAs-induced delta protein kinase C gene silencing / T. Novokhatska, S. Tishkin, V. Dosenko [et al.] // *Eur J. Pharmacol.* – 2013. – V. 718, issues 1-3. – P. 401–407.
46. $\text{PKC-}\delta$ isozyme gene silencing restores vascular function in diabetic rat / K. Klymenko, T. Novokhatska, I. Kizub [et al.] // *Bas. Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2014. – V. 27. – P. 1–9.
47. Plasmonic gold nanoparticles possess the ability to open potassium channels in rat thoracic aorta smooth muscle in a remote control manner / A. Soloviev, A. Zholos, I. Ivanova [et al.] // *Vasc. Pharmacol.* – 2015. – V. 72. – P. 190–196.
48. Zholos Non-drug remote control of Maxi-K channels in smooth muscle cells with nsano-photonic stimuli using plasmonic gold nanoparticles / A. Soloviev, M. Melnyk, I. Ivanova, A. Dryn // *JSN Nanotechnol. & Nanomed.* – 2016. – V. 4 (1). – P. 1037.
49. Ion channel mechanisms of rat tail artery contraction-relaxation by menthol involving, respectively, TRPM8 activation and L-type Ca^{2+} channel inhibition / D. Melanapy, C. D. Johnson, M. V. Kustov [et al.] // *Am. J. Physiol., Heart Circ. Physiol.* – 2016. – V. 311. – P. H1416–H1430.
50. *Ganitkevich V. Y.* Contribution of two types of calcium channels to membrane conductance of single myocytes from guinea-pig coronary artery / V. Y. Ganitkevich, G. Isenberg // *J. Physiol.* – 1990. – V. 426. – P. 19–42.
51. *Matsuda J. J.* Calcium currents in isolated rabbit coronary arterial smooth muscle myocytes / J. J. Matsuda, K. A. Volk, E. F. Shibata // *J. Physiol.* – 1990. – V. 427. – P. 657–680.
52. *Fleischmann B. K.* Voltage window for sustained elevation of cytosolic calcium in smooth muscle cells / B. K. Fleischmann, R. K. Murray, M. I. Kotlikoff // *Proc Nat. Acad Sci USA.* – 1994. – V. 91. – P. 11914–11918.
53. *Curtis T. M.* Nifedipine blocks Ca^{2+} store refilling through a pathway not involving L-type Ca^{2+} channels in rabbit arteriolar smooth muscle / T. M. Curtis, C. N. Scholfield // *J. Physiol.* – 2001. – V. 532. – P. 609–623.
54. *Smirnov S. V.* Ca^{2+} currents in single myocytes from human mesenteric arteries: evidence for a physiological role of L-type channels / S. V. Smirnov, P. I. Aaronson // *J. Physiol.* – 1992. – V. 457. – P. 455–475.
55. Contribution of transient and sustained calcium influx, and sensitization to depolarization-induced contractions of the intact mouse aorta / P. Fransen, Cor E Van Hove, J. Langen [et al.] // *BMC Physiology.* – 2012. – V. 12. – P. 9.
56. «Window» current in voltage gated calcium channels / A. Easton, R. Bartlett, D. Souvannakitti and D. A. Hanck // *The FASEB Journal.* – 2007. – V. 21. – P. 604.14

Миогенная автоматия и базальный тонус сосудов (клеточные осцилляторы как фармакологические мишени в терапии сосудистых заболеваний)

Сосудистый базальный тонус, характер которого определяется только внутренними факторами, уже больше 100 лет интригует и озадачивает физиологов и фармакологов. Удивительно, что существует огромное количество лекарственных средств для лечения сосудистых нарушений, в то время как механизмы, лежащие в основе формирования тонуса сосудов, до сих пор не установлены должным образом, несмотря на многие десятилетия напряженной работы. Вероятно, что именно этот факт может быть основной причиной отсутствия реального успеха в терапии основных сердечно-сосудистых заболеваний. Таким образом, одной из главных проблем физиологии и фармакологии сейчас является идентификация клеточных и молекулярных механизмов, связанных с формированием базального тонуса.

Интерес к роли гликолиза в формировании базального тонуса возник из того факта, что процесс гликолиза является самым древним и мощным биоэнергетическим процессом, происходящим универсально и повсеместно в живой природе. Другая причина такого интереса к гликолизу связана с его колебательным (осцилляторным) поведением и возможным вовлечением в гладкомышечную миогенную авторитмическую активность и формирование базального тонуса сосудов. Известно, что колебательное поведение характерно для многих биологических систем, включая метаболические, такие, как гликолиз. Мы полагаем, что осцилляции гликолиза играют главную роль в иницировании колебания мембранного потенциала, иницировании автоматической миогенной активности в клетках гладких мышц, что, в свою очередь, лежит в основе базального тонуса гладких мышц (ГМ) сосудов. Известно также, что уровень гликолиза в ГМ оказывается чрезвычайно высоким и в аэробных условиях. Это, безусловно, указывает на особую роль гликолиза в снабжении сосудов энергией. Интересно, что аэробный гликолиз в ГМ очень напоминает «парадокс Варбурга» при раке, когда опухолевые клетки также используют аэробный гликолиз из-за митохондриальных нарушений.

Понимание молекулярных и клеточных механизмов, ответственных за формирование осцилляций гликолиза, их роли в поддержании миогенной автоматии, а также роли гликолиза как специального поставщика АТФ для работы Na^+/K^+ , Ca^{2+} -насосов и K_{ATP} каналов, являются важным свидетельством его определяющей роли в регуляции тонуса сосудов. Это позволит в будущем создать фундаментальную основу для разработки новых подходов для фармакологической коррекции тонуса сосудов при самых различных заболеваниях. Удивительно, но это факт, что энергия АТФ, образующегося в ходе реакций окислительного фосфорилирования, целенаправленно используется АТФ-азами, связанными с реализацией собственно сократительного процесса, тогда как АТФ, образующийся при гликолизе, используется АТФ-азами ионных насосов для поддержания мембранного потенциала, то есть, электрогенеза. Например, полученные данные указывают на то, что гликолиз действует как поставщик энергии в первую очередь для Na^+/K^+ АТФ-азы.

Таким образом, существует функциональное структурирование метаболизма в ГМ, которое обеспечивает независимую метаболическую регуляцию различных функций ГМ, то есть сократимости и возбудимости. Это разделение метаболизма может быть результатом особой пространственной организации гликолитических ферментов внутри цитоплазмы. Гликолитические ферменты локализованы не только в сократительном аппарате, но и в плазматической мембране в функциональном сопряжении с ионными каналами (например, воротные свойства K_{ATP} ионных каналов зависят от АТФ, полученного в процессе гликолиза) и внешней мембране митохондрий. Еще один важный факт заключается в том, что в дополнение к метаболической компартментализации в ГМ существует и так называемая редокс-компарментализация. Очень важно отметить, что метаболическая и окислительно-восстановительная сигнальные системы тесно связаны между собой для того, чтобы обеспечивать регуляцию клеточных функций. При этом фермент пируватдегидрогеназа выступает в качестве своеобразного переключателя между двумя отделами энергетического метаболизма.

Термин «вазомоции» используют для обозначения колебаний сосудистого тонуса. Эти колебания могут происходить в сосудах многих тканей *in vivo* и коррелируют с такими же колебаниями тонуса *in vitro* в изолированных препаратах артерий. Методический подход *in vitro* позволяет нам изучить механизмы, лежащие в основе таких колебаний, но связь между этими обычно относительно крупными препаратами и колебаниями тонуса в мелких терминальных артериолах, наблюдаемых *in vivo*, еще предстоит определить. Несмотря на большое количество экспериментальных работ в этой области, физиологическое значение вазомоций остается не вполне ясным. Можно утверждать, что они играют важную роль в обеспечении оксигенации тканей, когда перфузия по той или иной причине скомпрометирована. Если это так, то этот феномен может быть механизмом существенного патофизиологического значения. Вазомоции чем-то похожи на погоду – многие говорят об этом, но немногие могут что-то с ними сделать. Мы начали распутывать клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе вазомоции. На мой взгляд, вазомоции – это, прежде всего, отражение глубинных механизмов формирования базального сосудистого тонуса.

Итак, гипотеза о роли гликолиза в формировании базального тонуса основывается на нескольких линиях доказательств: 1) сосудистая ткань демонстрирует аномально высокий уровень гликолиза даже при нормальной оксигенации; 2) метаболизм в ГМ сосудов функционально разделен, то есть, окислительное фосфорилирование, по-видимому, связано с энергообеспечением сократительного

процесса (сократимость), в то время как АТФ, образующийся при гликолизе, может быть специально использован для функционирования K_{ATP} , Na^+/K^+ АТФ-азы и Na/Ca обмена (то есть, участвует в процессах, связанных с электрогенезом); 3) существует высокая вероятность того, что гликолиз может быть вовлечен в генерацию медленных волн и авторитмическую активность в ГМ, которая, в свою очередь, может лежать в основе базального тонуса.

Основным источником для осцилляций кальция является саркоплазматический ретикулум, который периодически высвобождает кальций, приводя к появлению регенеративных волн кальция, проходящих через клетку. В присутствии цГМФ этот кальций способен активировать хлорные каналы в плазматической мембране. Если эти каналы активируются в достаточном количестве клеток одновременно, то клетки деполяризуются. Те клетки, которые еще не сокращены в этот момент, деполяризуются, потому что все клетки между собой электрически связаны. Деполяризация приведет к притоку кальция через кальциевые каналы L-типа, что не только вызывает сокращение, но и высвобождение кальция в покоеющихся клетках, тем самым как бы «сбрасывая» их внутриклеточные осцилляторы. Таким образом, вероятность того, что достаточное количество клеток станет активными в следующем цикле, становится очень высокой, и таким образом клетки вовлекаются в процесс синхронизованной фазной активности.

Базальный сосудистый тонус формируется гладкомышечными клетками как тонического, так и фазного типов с высоким уровнем аэробного гликолиза и обладающими авторитмической активностью. Развитие сосудистой гиперсократимости является следствием «пробуждения» так называемых «молчащих» клеток тонического типа вследствие блокирования выходящего калиевого тока и перехода их в авторитмичный режим. В результате суммирования этих сокращений повышается базальный уровень тонуса, что приводит к повышению кровяного давления.

Еще одним возможным дополнительным механизмом в формировании базального тонуса в относительно крупных кровеносных сосудах может быть устойчивый, неинактивирующий кальциевый ток, возникающий в ГМ клетках при уровнях мембранного потенциала, находящихся в зоне перекрытия кривых активации и инактивации (так называемые «оконные токи», window currents).

Ключевые слова: базальный тонус, гладкие мышцы, миогенная автоматия, гликолитический осциллятор

А. І. Соловйов

Міогенна автоматія та базальний тонус судин (клітинні осцилятори як фармакологічні мішені в терапії судинних захворювань)

Судинний базальний тонус, характер якого визначається тільки внутрішніми факторами, уже понад 100 років інтригує та спантеличує фізіологів і фармакологів. Дивно, що існує величезна кількість ліків для лікування судинних порушень, у той час як механізми, що лежать в основі формування тонусу судин досі не встановлені належним чином, незважаючи на багато десятиліть напруженої роботи. Ймовірно, що саме цей факт може бути основною причиною відсутності реального успіху в терапії основних серцево-судинних захворювань. Таким чином, однією з головних проблем у фізіології та фармакології сьогодні є ідентифікація клітинних і молекулярних механізмів, пов'язаних з формуванням базального тонусу.

Інтерес до ролі гліколізу в формуванні базального тонусу виник з того факту, що процес гліколізу є найдавнішим і потужним біоенергетичним процесом, що відбувається унікально та повсюдно в живій природі. Інша причина такого зацікавлення до гліколізу пов'язана з його коливальною поведінкою та можливим залученням до міогенної ритмічності в гладеньком'язових тканинах і формування базального тонусу судин. Добре відомо, що коливальна поведінка є характерною для багатьох біологічних систем, включаючи метаболічні, як-от, гліколіз. Ми вважаємо, що осциляції гліколізу відіграють головну роль в ініціюванні коливання мембранного потенціалу, ініціюванні автоматичної міогенної активності в клітинах гладеньких м'язів (ГМ), що, у свою чергу, лежить в основі базального тонусу судин ГМ. Відомо також, що рівень гліколізу в ГМ є надзвичайно високим і в аеробних умовах. Це, безумовно, вказує на особливу роль гліколізу в постачанні судин енергією. Цікаво, що аеробний гліколіз у ГМ дуже нагадує «парадокс Варбурга» за розвитку раку, коли пухлинні клітини також використовують аеробний гліколіз через мітохондріальні порушення. Розуміння молекулярних та клітинних механізмів, відповідальних за формування осциляцій гліколізу, а також ролі гліколітичних коливань у міогенній автоматії та базальному тонусі та ролі гліколізу як спеціального постачальника АТФ для роботи Na/K -, Ca -насосів та K_{ATP} каналів, є важливим свідченням його значення в регуляції тонусу судин і дозволить створити фундаментальну основу для фармакологічної корекції тонусу судин при захворюваннях. Дивовижно, але це факт, що АТФ, який утворюється за окисного фосфорильовання, використовується АТФ-азами, що пов'язані зі скороченням ГМ, тим часом як АТФ, який виникає за гліколізу, може використовуватись АТФ-азами іонних насосів для підтримання мембранного потенціалу, тобто електрогенезу. Наприклад, отримані дані ясно вказують на те, що гліколіз діє як постачальник АТФ, насамперед, для Na^+/K^+ -АТФ-аз.

Таким чином, існує функціональне структурування метаболізму в ГМ, яке забезпечує незалежну метаболічну регуляцію різних функцій ГМ, тобто скоротливості та збудливості. Цей розподіл метаболізму може бути результатом особливої просторової організації гліколітичних ферментів усере-

дині цитоплазми. Гліколітичні ферменти локалізовані не тільки в скорочувальному апараті, але й у плазматичній мембрані в функціональному супряженні з іонними каналами (наприклад, воротні властивості K_{ATP} іонних каналів залежать від АТФ, отриманого в процесі гліколізу), і в зовнішній мембрані мітохондрій. Ще одна важлива річ полягає в тому, що на додаток до метаболічної компартменталізації в ГМ існує редокс-компартменталізація. Дуже важливо відзначити, що метаболічна та окиснювально-відновна сигнальні системи тісно пов'язані між собою для того, щоб забезпечувати регуляцію клітинних функцій. При цьому фермент піруватдегідрогеназа є своєрідним перемикачем між двома відділами енергетичного метаболізму.

Термін «вазомотії» використовують для визначення коливань судинного тону. Ці коливання можуть відбуватися в судинах багатьох тканин *in vivo* і корелюють з такими самими коливаннями тону *in vitro* в ізольованих препаратах артерій. Незважаючи на велику кількість експериментальних робіт у цій галузі, фізіологічне значення вазомотії залишається не зовсім зрозумілим. Можна стверджувати, що вони відіграють важливу роль у забезпеченні оксигенації тканин, коли перфузія є скомпрометованою. Якщо це так, то цей феномен може бути механізмом суттєвого патофізіологічного значення. Вазомотії чимось схожі на погоду – багато хто говорить про це, але мало хто може щось з ними зробити. Ми ще тільки почали розплутувати клітинні та молекулярні механізми, що лежать в основі вазомотії. На мою думку, вазомотії – це, насамперед, відображення глибинних механізмів формування базального судинного тону.

Гіпотеза про роль гліколізу в формуванні базального тону ґрунтується на декількох лініях доведення: 1) судинна тканина демонструє аномально високий рівень гліколізу навіть за нормальної оксигенації; 2) метаболізм у ГМ судин функціонально та просторово розділений, тобто окисне фосфoryлювання, можливо, пов'язане з енергопостачанням скорочувального процесу (скоротливості), тимчасом як АТФ, що утворюється при гліколізі, може бути спеціально використаний для функціонування K_{ATP} каналів, Na/K АТФ-ази і Na/Ca обміну (тобто, беруть участь у електрогенезі); 3) існує висока ймовірність того, що гліколіз може бути залучений до генерації повільних хвиль й авторитмічної активності в ГМ, яка, у свою чергу, може лежати в основі базального тону.

Основним джерелом для осциляції кальцію є саркоплазматичний ретикулум, який періодично вивільнює кальцій, що призводить до появи регенеративних хвиль кальцію, що проходять крізь клітину. У присутності цГМФ цей кальцій здатен активувати хлорні канали в плазматичній мембрані. Якщо ці канали активуються в достатній кількості клітин одночасно, то клітини деполаризуються. Ті клітини, які ще не скорочені в цей момент, деполаризуються теж, оскільки всі клітини між собою електрично пов'язані. Деполаризація призводить до припливу кальцію через кальцеві канали L-типу, що не тільки викликає скорочення, а й вивільнення кальцію в неактивованих клітинах, тим самим ніби «скидаючи» їхні внутрішньоклітинні осцилятори. Таким чином, ймовірність того, що достатня кількість клітин буде активними в наступному циклі, стає дуже високою, і таким чином клітини залучаються до процесу фазної активності.

Базальний судинний тонус формується в ГМ як тонічного, так і фазного типу з високим рівнем аеробного гліколізу, яким, до того ж, притаманна авторитмічна активність. Розвиток судинної гіперскоротливості є наслідком «пробудження» так званих «мовчазних» клітин тонічного типу внаслідок блокування в них вихідного калієвого струму та переходу клітин в авторитмічний режим. У результаті сумарної цих скорочень підвищується базальний рівень тону, що призводить до підвищення системного кров'яного тиску.

Ще одним можливим додатковим механізмом формування базального тону у відносно великих кровоносних судинах може бути стійкий неінактивуючий кальцевий струм у ГМ, що виникає в клітинах за рівня мембранного потенціалу, який знаходиться в зоні перекриття кривих активації та інактивації (так звані віконні струми – window currents).

Ключові слова: базальний тонус, гладенькі м'язи, міогенна автоматія, гліколітичний осцилятор

A. I. Soloviev

Myogenic automaticity and vascular basal tone (cellular oscillators as pharmacological targets in therapy of vascular diseases)

Vascular basal tone the nature of which is determined by intrinsic factors alone has intrigued and puzzled physiologists for more than 100 years. It is surprisingly that despite a huge number of drugs for vascular malfunctions pharmacological correction are exist while the mechanisms underlying vascular basal tone formation till this time are not established properly despite of many decades of hard work. It is likely this fact may be the key reason for the absence of a real success in a therapy of the main cardiovascular diseases. Thus, one of the main challenges in physiology now is to understand cellular and molecular mechanisms related to basal tone formation.

The general interest to glycolysis arose from the fact that glycolysis process is the most ancient and powerful bioenergetic process occurring uniquely and universally in living nature. Another reason for the interest is related to its oscillatory behavior and possible involvement in smooth muscle myogenic rhythmicity and vascular basal tone formation.

Oscillatory behavior is known to occur in many different biological systems including metabolic such as glycolysis which is well known to oscillate. We suppose that glycolysis oscillations play the main role in

triggering membrane potential oscillation, initiation of automatic myogenic activity in smooth muscle cells which, in turn, appears to be underlying basal tone in vascular smooth muscle (VSM). It is known also that the level of glycolysis in VSM appears to be extremely high in aerobic condition. This clearly indicates on particular role of glycolysis in vascular energy supply. It is interesting that this aerobic glycolysis and «lactate paradox» in VSM are very similar to the «Warburg paradox» in cancer when tumor cells also using aerobic glycolysis due to mitochondrial malfunctions.

Understanding the molecular and cellular mechanisms responsible for oscillation and the role of glycolytic oscillation in myogenic activity and basal tone as well its probability to be a special ATP supplier to Na/K, Ca pumps and K_{ATP} channels will provide crucial evidence for vascular tone regulation in health and this way to give fundamental basis for pharmacological corrections in disease. It is important to stress that the ATP produced by oxidative phosphorylation is specially utilized by the ATPases associated with contraction, whereas the ATP produced by glycolysis may be specially used by the ATPases of ion pumps. For instance, the data obtained clearly indicate that glycolysis act as a primarily ATP supplier for Na^+/K^+ -ATP-ase.

Therefore, a structuring of metabolism in VSM exist that results in independent metabolic regulation of different VSM functions, i.e. contractility and excitability. This compartmentalization of metabolism may be result from a spatial organization of the glycolytic enzymes within cytoplasm. Glycolytic enzymes are localized not only to the contractile apparatus but to plasma membrane with functional coupling to membrane ion channels (for instance, gating properties of K_{ATP} are dependent on ATP derived from glycolysis) and outer mitochondrial membrane. Another important thing that redox compartmentalization in addition to metabolic compartmentalization is exist in VSM. It is very important to note since metabolic and redox signal are closely related and established to play a role in cellular function regulation due to pyruvate dehydrogenase acting as gatekeeper between two compartments of energetic metabolism. Vasomotion denotes oscillations in vascular tone. These oscillations can occur in vessels in many tissues *in vivo*, and correlates *in vitro* in isolated preparations of arteries. The *in vitro* approach enables us to study the mechanisms underlying oscillations in multicellular tissues, but the connection between these generally relatively large preparations and the oscillations in terminal arterioles seen *in vivo* remains to be determined. In spite of a large body of experimental work, the physiological significance of vasomotion remains elusive. Arguably, there is some evidence pointing in the direction of a role in tissue oxygenation when perfusion is compromised. If so, the phenomenon would be a mechanism of substantial pathophysiological importance. Although vasomotion has been like the weather-many talk about it but few do anything seriously about it-we have begun to unravel the cellular and molecular mechanisms of oscillation and cellular coupling underlying vasomotion. As for me, vasomotion is, first of all, reflection of depth mechanisms of basal vascular tone formation.

This hypothesis is based on several lines of evidence: i) it is amazing that vascular tissue demonstrates abnormally high level of glycolysis under normal oxygenation; ii) it is likely that metabolism in vascular smooth muscle (VSM) is functionally compartmentalized, i.e. oxidative phosphorylation appears to be associated with the energy supply for contraction (contractility) while ATP produced by glycolysis may be specially used by the K_{ATP} , Na/K-ATP-ase and via Na/Ca exchange by calcium pump (i.e. involved in electrogenesis); iii) it is high level of probability that glycolysis may be involved in generation of the slow waves and autorhythmic activity in VSM which, in turn, may underlie in basal tone origin.

The basic calcium oscillator is the sarcoplasmic reticulum (SR), which intermittently releases calcium leading to regenerative waves of calcium traversing the cell. In the presence of cyclic GMP (cGMP), this calcium also is able to activate a chloride channel in the plasma membrane. If this current is activated in a sufficient number of cells at the same time, cells will depolarize. Also cells that are not contracting at that moment will depolarize, because all cells are electrically coupled. Depolarization will cause calcium influx through L-type calcium channels, which not only triggers contraction but also calcium release in quiescent cells, thus resetting their intracellular oscillators. In this way, the likelihood for a sufficient number of cells becoming active together in the next cycle is very high, and the cells in effect become phase-locked.

Thus, basal vascular tone is formed by smooth muscle cells of «both» tonic and «phase» types with a high level of aerobic glycolysis and autorhythmic activity. Development of vascular hypercontractility is a consequence of «awakening» of so called «silent» cells of «tonic» type due to lower in outward current and transition them into autorhythmic mode. As a result of the summation of these contractions a basal tone level increases, leading to an increase in blood pressure.

One more possible an additional contribution to basal tone formation in relatively large blood vessel may be the sustained, non-inactivating calcium current occurred at voltages where voltage-dependent activation and inactivation overlapped (voltage window).

Key words: basal tone, smooth muscle, myogenic automaticity, glycolysis oscillation

Надійшла: 28 лютого 2017 р.

Контактна особа: Соловйов А. І., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ, буд. 14, вул. Е. Потье, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.

В. Б. Ларіонов, А. С. Редер, М. Я. Головенко, І. П. Валіводзь

Протиепілептична дія пропоксазепаму при використанні моделі максимального електрошоку*Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського
Національної академії наук України, м. Одеса**Ключові слова: максимальний
електрошок, пропоксазепам,
протиепілептична дія*

Епілепсія – одне з поширених захворювань центральної нервової системи (ЦНС). Вона становить значну медичну та соціально-економічну проблему й за відсутності адекватного лікування набуває хронічного перебігу; часто виникають рецидиви, що позначається на перебігу одужання [1]. Незважаючи на досягнення останніх років у фармакотерапії багатьох захворювань ЦНС, суттєвого прогресу в лікуванні судомної патології досягти не вдалося. Кожна клінічна форма захворювання характеризується певними механізмами розвитку, що зумовлює необхідність індивідуального підбору фармакотерапії для пацієнтів. При цьому значний арсенал препаратів для лікування епілепсії має різну специфічну активність і викликає низку побічних реакцій, які мають місце більш ніж у третині випадків. Дану проблему доповнює наявність фармакорезистентності до існуючих антиконвульсивних засобів, яка зустрічається в значній частині пацієнтів [2]. Отже, існує нагальна необхідність створення й вивчення нових потенційних протиепілептичних засобів, які будуть мати високу ефективність та безпечність. За цих умов перспективними є похідні 1,4-бенздіазепіну, серед яких діазепам, клоназепам, нітразепам та інші, що вже використовуються для лікування деяких форм епілепсії [3].

У Фізико-хімічному інституті НАН України синтезовано низку 3-заміщених 1,4-бензодіазепінів і досліджено залежність «структура – активність». На відміну від більшості препаратів цього класу, яким притаманна анксиолітична, снодійна, міорелаксуюча та протисудом-

на дії, зазначені речовини на моделях ноцицептивного та нейропатичного болю проявили значну анальгезуючу активність. Одна з них, що отримала назву пропоксазепам – 7-бром-5 (о-хлорфеніл)-3-пропокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-он, розглядається як перспективний лікарський засіб і проходить необхідні доклінічні випробування [4–6]. Подібно до габапентину й прегабаліну, відомих препаратів, що використовуються в широкій медичній практиці при лікуванні епілепсії та нейропатичного болю [7], пропоксазепам також має й протисудомну дію, що до певної міри пояснює знеболюючий компонент фармакологічного спектра.

Мета дослідження – оцінка протиепілептичної дії пропоксазепаму на експериментальній моделі максимального електрошоку (МЕШ).

Матеріали та методи. Досліди проводили на білих безпородних мишах обох статей, яких утримували згідно з міжнародними та національними рекомендаціями з біоетики (Директива Європейського Союзу 2010/10/63 EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети) на стандартній лабораторній дієті за природного світлового циклу з вільним доступом до води та їжі.

Досліджувану сполуку вводили внутрішньоочеревинно, що запобігає впливу величини біодоступності, тривалості всмоктування, можливого ефекту первинного проходження через печінку та інших факторів на досягнення максимальної концентрації сполуки у внутрішньому середовищі організму. Тварини контрольної групи отримували аналогічний об'єм ізотонічного розчину

натрію хлориду. МЕШ, що моделює тоніко-клонічні судом людини (grand mal), викликали за допомогою корнеальних електродів, використовуючи надпорогове подразнення перемінним струмом (50 Гц, 50 мА), тривалістю 0,2 с [8–10], що викликало тонічні, клонічні та тоніко-екстензорні судомні напади. Зазвичай у разі оцінки протисудомної дії сполуки визначають два показники – кількість тварин у групі, в яких спостерігався розвиток тоніко-екстензорної фази, та кількість тварин з летальним ефектом.

Кількісним критерієм захисної дії сполуки була величина ED_{50} , при якій вірогідність прояву захисної дії в 50 % тварин є найбільшою. Захисний ефект сполуки оцінювали за первинними показниками тварин, що вижили в кожній окремій групі. Розрахунок величини ED_{50} здійснювали з використанням скоригованих показників вірогідності розвитку ефекту пробіт-методом [11, 12]. Розрахунок нахилу кривої «доза-ефект» проводили за формулою

$$s = \left(\frac{ED_{82}}{ED_{50}} + \frac{ED_{50}}{ED_{18}} \right) 0.5 \quad ,$$

де ED_{18} , ED_{50} та ED_{82} – розраховані дози, що відповідають розвитку ефекту в 18, 50 або 82 % тварин (дози в межах $\pm \sigma$).

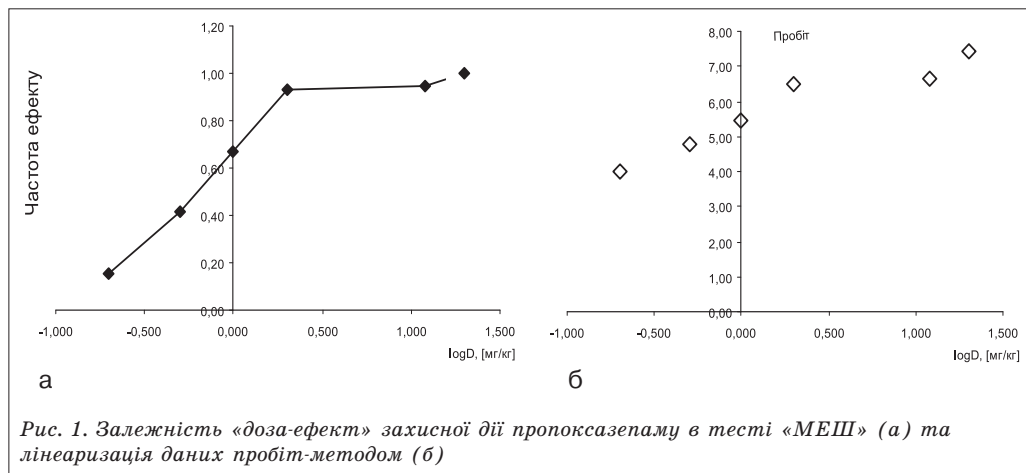
Форма кривої «доза-ефект» для показника захисної дії наближається до симетричної, тому розраховані дані ED_{50} надано у вигляді «середнє $\pm$ стандартне відхилення». Для показників окремих станів судомного нападу симетричний характер кривих не зберігався, внаслідок чого їх наведено у вигляді «медіана (перший, третій квартиль)».

Результати та їх обговорення. Вибір експериментальної фармакологічної моделі залежить від цілей програми дослідження, яка передбачає скринінг сполук або/та феноменологічний опис (аналіз потенційно значущих змін), а також визначення основних механізмів епілепсії.

Тест «МЕШ» в експериментальній фармакології є визнаним еквівалентом тоніко-клонічних судом людини (grand mal) та парціальних пароксизмів. Його було запропоновано понад 60 років тому [13], і він все ще є одним з найважливіших

і інших методів скринінгу потенційних протиепілептичних засобів. Незважаючи на індивідуальні відмінності експериментальних тварин щодо судомної чутливості, тест «МЕШ» дає можливість визначити вплив сполуки на поріг перебігу процесу в конкретній тварини або групи тварин. Це робить зазначений метод більш чутливим і прийнятним для тестування протисудомної активності ГАМК-стимулюючих антиконвульсантів. Зазначена модель дає змогу не тільки визначити ефективність сполуки, але й охарактеризувати деякі механізми її дії.

Незважаючи на комплексний характер впливу електроструму на діяльність мозку, провідними є окремі фази порушення функціонування, що призводять до розвитку епілептичного нападу, і це, перш за все, стосується виникнення генералізованої деполяризації нейронів з одночасною дефункціоналізацією структур мозку. Цей стан відповідає першій фазі, при якій спостерігаються тонічні скорочення кінцівок. Фаза клонічних скорочень кінцівок відповідає утворенню короткочасних осцилюючих осередків збудження на тлі затухання попередньої електростимуляції з одного боку та блокування гальмівних систем ЦНС з іншого. За умов відсутності контролю збуджувальних процесів мозку гальмівними системами (головним чином ГАМК-ергічною) або її гіперактивації в патогенезі розвитку судом здебільшого за рахунок глутаматних рецепторів (NMDA-, та AMPA-типу) відбувається синхронізація декількох пароксизмальних осередків з утворенням потужного епілептогенного комплексу, а також генералізація збудження та скорочення скелетних м'язів, що зовнішньо реєструється як фаза тонічної екстензії. За умов присутності в мозку сполуки, що має депримуєчу дію, гальмівні системи знаходяться в гіперполяризованому стані, сталість якого залежить від таких чинників, як афінітет сполуки до цих рецепторів, величина внутрішньої активності та концентрація сполуки в мозковій тканині. Сполуки з потужною протиепілептичною дією більш ефективно повертають гальмівну



систему до фізіологічного стану, що блокує розвиток пароксизмальної активності в подальших фазах судомного нападу, викликаного МЕШ.

З огляду на наведений характер патогенезу судом при МЕШ доцільним є також фіксування часу перебігу кожної з фаз, оскільки цей показник є загальною характеристикою зміни процесів за цей період. Окрім того, після відновлення нативного стану ЦНС тварини знаходяться в стані певного ступору – рефрактерного періоду, протягом якого відновлюються поведінкові рефлекси. Тривалість цього періоду є характеристикою швидкості повернення стану ЦНС до фізіологічного.

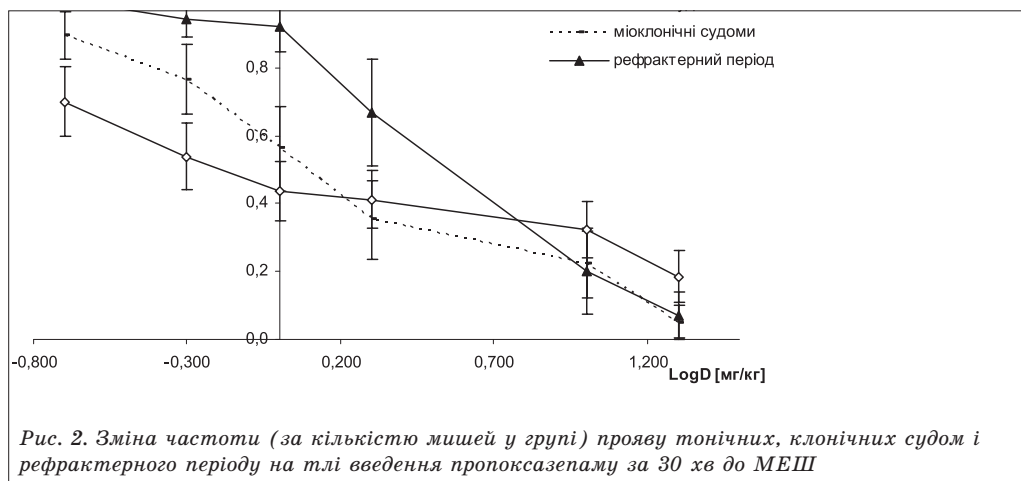
У контрольних умовах електростимуляція не викликала тоніко-клонічні судоми, а структура епілептичного нападу була представлена лише тонічним компонентом, асоційованим з незворотними процесами розповсюдження збудження, що й обумовлювало високий рівень летальності у контрольній групі (100 %, n = 6). Середня тривалість тонічного компонента в тварин склала (14,9 ± 2,6) с, і цей показник не мінявся внаслідок впливу різних доз пропоксазепаму.

Попереднє введення мишам у зростаючих дозах (0,2–20,0 мг/кг) пропоксазепаму, у якого в попередніх дослідках [5] виявлено здатність блокувати судоми, викликані коразолом, призводить до підвищення захисної дії в тесті «МЕШ» (рис. 1, а), з досягненням максимального захисного ефекту (100 %) у дозі 20,0 мг/кг. Привертає увагу те, що

залежність «доза-ефект» у цьому тесті не відповідає формі нормального розподілу в інтервалі використаних доз. Так, дози, що знаходяться в межах 10–90 % захисного ефекту, викликають майже лінійну залежність, тоді як частина кривої в межах максимальних частот захисної дії має більш спадастий нахил. Така двофазність є більш помітною при лінеаризації даних пробіт-аналізом (рис. 1, б), внаслідок чого використання цієї групи даних у загальному розрахунку величини ЕД₅₀ не є обґрунтованим.

Спостерігаються також зміни прояву окремих станів судомного нападу, зокрема, дозозалежне зменшення частоти виникнення тонічних та клоніко-тонічних судом у тварин (рис. 2) зі зниженням до ~ 10 % від загальної кількості тварин. Разом з тим, відмічається також зменшення частоти прояву рефрактерної фази (рис. 2), що свідчить про переважну активацію гальмівних систем ЦНС у період до застосування МЕШ.

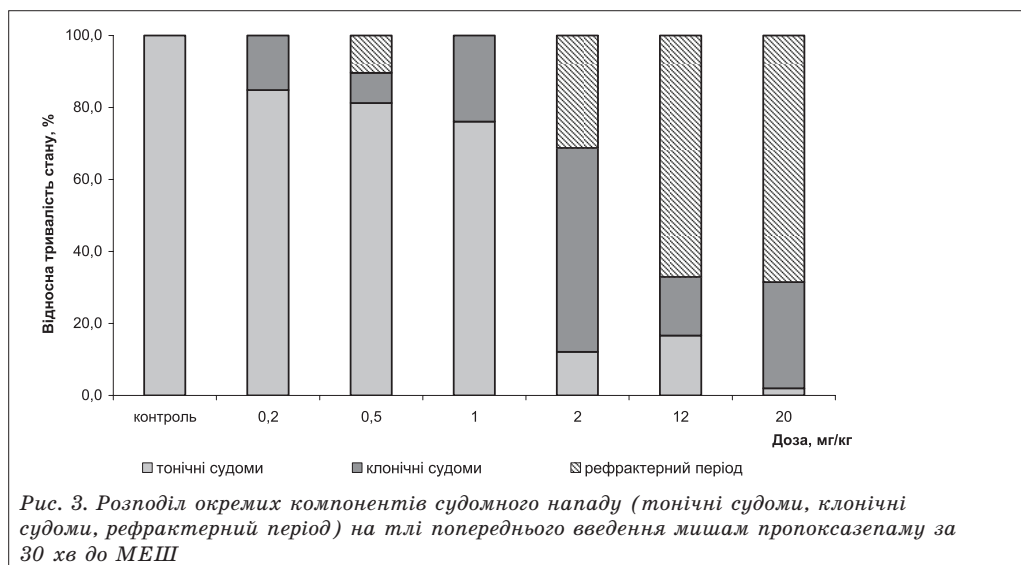
Підвищення дози пропоксазепаму також викликає перерозподіл окремих компонентів судомного нападу. Під впливом МЕШ у тварин контрольної групи виникають тонічні напади (рис. 3), що характеризуються високою летальністю. При введенні пропоксазепаму навіть у дозі 0,2 мг/кг структура викликаного епілептичного нападу представлена й клонічним компонентом (до 15 %), а подальше підвищення дози не тільки збільшує парціальний внесок цього стану, але й підвищує



рефрактерний час, асоційований з захисним ефектом.

За показниками захисного ефекту (таблиця) у тесті «МЕШ» сполука проявляє значну захисну (протиепілептичну) дію з величиною ED_{50} ($0,57 \pm 0,23$) мг/кг ($1,39 \pm 0,56$) мкмоль/кг). Нахил кривої (s), що дорівнює 0,51 (таблиця), свідчить про повільне зростання захисного ефекту в умовах підвищення дози (у межах величини ED_{50}). Для виділених окремих супутніх станів судомного нападу також були розраховані показники середньої ефективної дози та кута нахилу кривої «доза-ефект». Оскільки криві мають форму, що спадає (зниження прояву окремих компонентів зі зростанням дози), це відображається у величинах кутів їхнього нахилу (від'ємні значення). За всіма парціальними

показниками судомного нападу в разі використаної фармакологічної моделі швидкість зміни ефекту (як кут нахилу кривої) у межах середньої ефективної дози є досить малою (показники s за абсолютною величиною менші ніж 1). Ймовірним поясненням цього факту є зміни функціонального стану ЦНС, які під впливом МЕШ є настільки значними, що пропоксазепам у використаному інтервалі доз не забезпечує повного блокування всіх компонентів судомного нападу. Привертає увагу те, що форми цих кривих не є симетричними відносно медіанної ефективної дози, тому дані нами наведено у формі (ED_{50} ($ED_{82} \div ED_{18}$)), тобто розрахункові дози, що викликають 50 %, 82 % та 18 % ефекту відповідно. Отримані результати свідчать про те, що досягнення середньої



Показники фармакологічної дії пропоксазепаму в тесті «МЕШ» за оцінкою протисудомної дії та впливу на окремі компоненти судомного нападу

Показник	Захисний ефект*	Компоненти судомного нападу**		
		тонічні судоми/ тонічна екстензія	клонічні судоми	рефрактерний період
ЕД ₅₀ , мг/кг	0,57 ± 0,23	0,92(0,021÷39,9)	1,53(0,28÷8,5)	0,56(0,001÷237)
ЕД ₅₀ , мкмоль/кг	1,39 ± 0,56	2,25(0,05÷97,9)	3,7(0,7÷20,9)	1,29(0,003÷581)
Нахил кривої «доза-ефект», s	0,51	-21,2	-2,3	-4,2

Примітка. *Кількість тварин, що вижили (середнє ± стандартне відхилення, $M \pm t$); **медіана (перший, третій квартиль) ($Me(Q1, Q3)$).

частоти ефекту відбувається в разі менших доз пропоксазепаму, тоді як збільшення частоти ефекту потребує непропорційного підвищення дози (медіанна доза ЕД₅₀ має зсув до менших значень ЕД₁₈, ніж до ЕД₈₂ (таблиця). Зазначене може бути наслідком викликаних пропоксазепамом гальмівних процесів у ЦНС та, зокрема, низькою внутрішньою активністю відносно ГАМК-ергічної системи, яка посідає провідне місце в обмеженні розповсюдження збудження.

Отримані результати щодо захисної дії пропоксазепаму (ЕД₅₀ (0,57 ± 0,23) мг/кг) на моделі МЕШ є дещо незвичними не тільки для похідних 1,4-бенздіазепіну, але й для більшості протиепілептичних лікарських засобів. Справа в тому, що раніше розрахований нами показник ЕД₅₀ захисної дії пропоксазепаму в тесті коразолових судом складав (0,92 ± 0,38) мг/кг [5]. З урахуванням похибок експериментів можна визнати показники, отримані для МЕШ та коразолу, близькими. У той самий час з джерел літератури [14, 15] відомо про відсутність симбатності між зазначеними показниками. Так, діазепам має наступне співвідношення (МЕШ/Коразол, мг/кг, миші, внутрішньоочеревинно): 3,5/0,52; клоназепам – 7,5/0,006; нітразепам – 4,5/0,027; феназепам – 10,2/0,037; гідазепам – 41,2/0,36. Похідні барбітурової кислоти (фенобарбітал, примідон) мають відповідно наступні показники: 21,8/13,2; 11,4/58,6, а дифенілгидантоїн – 12,8/149,8. Деякі антиконвульсанти (фенітоїн, карбамазепін) не впливають на судоми, викликані коразолом, але є активними від-

носно МЕШ (9,5 та 8,8 відповідно). Тільки для метсуксиміду (76,3/68,3) та вальпроєвої кислоти (271,7/148,6) спостерігаються близькі показники. Вочевидь, захисні властивості препаратів у зазначених моделях залежать, принаймні, від двох складових: від дії судомних агентів на різні анатомо-морфологічні структури ЦНС [16] та молекулярних механізмів виникнення судом.

Що стосується значної різниці у співвідношеннях показників МЕШ/Коразол споріднених сполук (1,4-бенздіазепінів), що мають аналогічні механізми дії, то поясненням можуть бути дані щодо структури ГАМКА-ергічної системи, для якої ефект коразолу часто характеризується як «неконкурентний» відносно протисудомних похідних 1,4-бензодіазепіну [17]. Зазначимо, що частину ГАМКА-рецептора представлено низкою підтипів, серед яких $\alpha 4\beta 3\delta$, $\alpha 3\beta \gamma 2$, $\alpha 3\beta \gamma 2$, $\alpha 1\beta \gamma 2$, що відповідають за судомну дію хемоконвульсантів. Більш того, кожен бенздіазепін має більшу спорідненість до певного підтипу рецепторів [18]. Так, діазепам, клоназепам і нітразепам відносяться до високоафінних сполук $\alpha 2$ та $\alpha 3$ рецепторів, а феназепам – до помірних.

Висновки

1. У тесті «МЕШ» на мишах середня ефективна доза пропоксазепаму складає (0,57 ± 0,23) мг/кг (1,39 ± 0,56) мкмоль/кг) з нахилом кривої «доза ефект» 0,51, що вказує на неспецифічність захисного ефекту сполуки в даній фармакологічній моделі.

2. Зі збільшенням дози змінюється парціальний розподіл окремих компонентів судомного нападу – зменшується кількість тонічних нападів з дозозалежним зростанням показників клонічного компоненту та збільшенням рефрактерного часу, що корелює з профілем захисної дії пропоксазепаму.
 3. Форми кривих «доза-ефект» сполук відносно окремих компонентів судомного нападу, викликаного МЕШ, не є симетричними відносно ED_{50} . Величина середньої ефективної дози для кожного з окремих показників має зсув до менших значень ED_{18} , що є наслідком гальмівних процесів у ЦНС, викликаних пропоксазепамом, та, можливо, його низької внутрішньої активності відносно рецепторів ГАМК.
1. Sauro K. M. The current state of epilepsy guidelines: A systematic review. / K. M. Sauro, S. Wiebe, C. Dunkley // *Epilepsia*. – 2016. – V. 57 (1). – P. 13–23.
 2. Schmidt D. Drug resistance in epilepsy: Putative neurobiological and clinical mechanisms / D. Schmidt, W. Löscher // *Epilepsia*. – 2005. – V. 46 (6). – P. 858–877.
 3. Ochoa J. The role of benzodiazepines in the treatment of epilepsy / J. Ochoa, W. Kilgo // *Curr Treat Options Neurol*. – 2016. – V. 18. – P. 1–12.
 4. Analgesic effects of 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepines and their possible mechanisms / V. I. Pavlovsky, O. V. Tsybalyuk, V. S. Martynyuk [et al.] // *Neurophysiology*. – 2013. – V. 45, № 5/6. – P. 427–432.
 5. Активация ГАМК-ергичной системы пропилдоксиподним 1,4-бенздиазепином на моделях нейронального болевого та судом, що індуковані коразолом / М. Я. Головенко, В. Б. Ларіонов, А. С. Редер [та ін.] // *Журн. Національної академії медичних наук України*. – 2016. – № 3. – С. 251–260.
 6. Анальгетические и противовоспалительные свойства новых 3-алкокси-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов / В. И. Павловский, Т. А. Кабанова, Е. И. Халимова, С. А. Андронати / *Вестник Одесского национального университета*. – 2013. – Т. 18, В. 3 (47). – С. 28–38.
 7. Застосування 7-бром-5-(о-хлорфеніл)-3-пропокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздиазепін-2-ону для гальмування нейропатичного болю та судом різної етіології / Редер А. С., Андронати С. А., Головенко М. Я., Павловський В. І., Кабанова Т. А., Халімова О., Ларіонов В. Б., Волощук Н. І. // *Заявка на винахід*. А 2016. - 10083.
 8. Löscher W. Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations / W. Löscher, D. Schmidt // *Epilepsy Res*. – 1988. – V. 2 (3). – P. 145–81.
 9. Mareš P. Electrical stimulation-induced models of seizures / P. Mareš, H. Kubová // *Models of Seizures and Epilepsy*. Pitkänen, A., Schwartzkroin, P.A., Moshé, S.L. (Eds.). – Elsevier Academic Press : USA, 2006. – Chapter 12, 153-9.
 10. Löscher W. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal electroshock seizure models / W. Löscher, C. P. Fassbender, B. Nolting // *Epilepsy Res*. – 1991. – V. 8 (2). – P. 79–94.
 11. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В. Ю. Урбах. – Москва : Медицина, 1975. – 297 с.
 12. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – Москва : Практика, 1999. – 334 с.
 13. Toman J. E. P. Properties of maximal seizures, and their alteration by anticonvulsant drugs and other agents / J. E. P. Toman, E. A. Swinyard, L. S. Goodman // *J. Neurophysiol*. – 1946. – V. 9 (3). – P. 231–9.
 14. Koella W. P. Animal Experimental Methods in the Study of Antiepileptic Drugs / W. P. Koella // *Antiepileptic drugs*. – Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag, 1985. – P. 283–340.
 15. Феназепам: 25 лет в медицинской практике / [С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов, В. П. Жердев]. – Москва : Наука, 2007. – 381 с.
 16. Miller J. W. Functional anatomy of pentylenetetrazol and electroshock seizures in the rat brainstem / J. W. Miller, A. C. McKeon, J. A. Ferrendelli // *Ann Neurol*. – 1987. – V. 22 (5). – P. 615–21.
 17. Bloom P. Effects of pentylenetetrazole on GABA receptors expressed in oocytes of *Xenopus laevis*: extra- and intracellular sites of action / P. Bloom, M. Madeja, U. Mushhoff, E.-J. Specmann // *Neurosci. Lett*. – 1996. – V. 205. – P. 115–118.
 18. An updated unified pharmacophore model of the benzodiazepine binding site on γ -aminobutyric acid receptors: correlation with comparative models / T. Clayton, J. Chen, M. Ernst [et al.] // *Current Medicinal Chemistry*, 2007. – V. 14. – P. 2755–2775.

В. Б. Ларіонов, А. С. Редер, М. Я. Головенко, І. П. Валіводзь
Протиепілептична дія пропоксазепаму при використанні моделі
максимального електрошоку

Мета дослідження – оцінка протиепілептичної дії пропоксазепаму (7-бром-5 (о-хлорфеніл) -3-пропокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздиазепін-2-он) на експериментальній моделі максимального елек-

трошоку (МЕШ), яка є рівнозначною тоніко-клонічним судомам людини (grand mal). Досліди проводили на білих безпорідних мишах, пропоксазепам вводили внутрішньоочеревинно за 0,5 год до МЕШ.

Середня ефективна доза пропоксазепаму складає $(0,57 \pm 0,23)$ мг/кг ($1,39 \pm 0,56$) мкмоль/кг з нахилом кривої «доза ефект» 0,51, що вказує на неспецифічність захисного ефекту сполуки в даній фармакологічній моделі. Зі збільшенням дози змінюється парціальний перерозподіл окремих компонентів судомного нападу – знижується частка тонічної складової з дозозалежним зростанням клонічного компонента та збільшенням рефрактерного часу, що корелює з посиленням захисної дії пропоксазепаму. При введенні низьких доз доля тонічного компонента відповідає високому летальному ефекту (~ 80 %), а зі збільшенням дози вона практично зникає, та підвищується рефрактерний час постепілептичного стану до 70 %.

Ключові слова: максимальний електрошок, пропоксазепам, протиепілептична дія

В. Б. Ларионов, А. С. Редер, Н. Я. Головенко, І. П. Валиводзь
Противоэпилептическое действие пропоксазепам при использовании модели максимального электрошока

Цель исследования – оценка противоэпилептического действия пропоксазепам (7-бром-5 (o-хлорфенил) -3-пропокси-1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-она) на экспериментальной модели максимального электрошока (МЭШ), равноценной тонико-клоническим судорогам человека (grand mal). Исследования проводили на белых беспородных мышах, пропоксазепам вводили внутривенно за 0,5 ч до МЭШ.

Средняя эффективная доза пропоксазепам составляет $(0,57 \pm 0,23)$ мг / кг ($1,39 \pm 0,56$) мкмоль/кг с наклоном кривой «доза эффект» 0,51, что указывает на неспецифичность защитного эффекта соединения на данной фармакологической модели. С увеличением дозы изменяется парциальное перераспределение отдельных компонентов судорожного припадка – снижается доля тонической составляющей с дозозависимым ростом клонического компонента и увеличением рефрактерного времени, что коррелирует с повышением защитного действия пропоксазепам. При введении низких доз соединения доля тонического компонента соответствует высокому летальному эффекту (~ 80 %), а с увеличением дозы она практически исчезает и увеличивается рефрактерное время постэпилептического состояния до 70 %.

Ключевые слова: максимальный электрошок, пропоксазепам, противоэпилептическое действие

V. B. Larionov, A. S. Reder, N. Ya. Golovenko, I. P. Valivodz`
Propoxazepam antiepileptic efficacy on the maximal electroshock model

The aim of the work was evaluation of propoxazepam`s (7-bromo-5 (o-Chlorophenyl) -3-propoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-one) antiepileptic efficacy on the of maximal electroshock (MES) experimental model, which is equal to tonical-clonical seizures in human (grand mal). The study was performed on albino mice, propoxazepam was administered intraperitoneally 0,5 h prior to the MES.

Propoxazepam mean effective dose (ED_{50}) is $(0,57 \pm 0,23)$ mg/kg ($1,39 \pm 0,56$) mM/kg with the «dose effect» curve slope 0.51 that indicates non-specific protective effect of the compound in this pharmacological model. Dose increase leads to changes in different convulsions types partial impact in total seizure episode – there is a reduction of tonic component representation with a dose-dependent increase of clonic component and refractory time, which correlates with a high lethal effect (~ 80 %); propoxazepam dose increase associated with nearly diminishing of this component and simultaneous increasing of postepileptic state refractory period (up to 70 %).

Key words: maximal electroshock, propoxazepam, antiepileptic effect

Надійшла: 14 лютого 2017 р.

Контактна особа: Головенко Микола Якович, академік НАМН України, доктор біологічних наук, відділ фізико-хімічної фармакології, Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, буд. 86, Люстдорфська дорога, м. Одеса, 65080. Тел.: +38 0 48 765 94 02. Електронна пошта: n.golovenko@gmail.com

І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, І. А. Отрішко

Вивчення впливу препарату «Капікор» на перебіг ендотеліальної дисфункції в щурів з церебральною ішемією

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: ендотеліальна дисфункція, мельдоній, гамма-бутиробетайн, церебральна ішемія, Капікор

За даними ВООЗ, у 2012 році від кардіоваскулярної патології померло 17,5 млн осіб, що склало 31% від усіх випадків передчасної смерті в світі. З цього числа 7,4 млн осіб померли від ішемічної хвороби серця і 6,7 млн – у результаті інсульту. Понад 75 % випадків смерті від захворювань даної групи відбуваються в країнах з низьким і середнім рівнем доходу [1, 2].

У зв'язку з вищевикладеним, ефективна профілактика та лікування ішемічних станів натеper є одним з найпріоритетніших напрямів наукових досліджень у галузі клінічної фармації, а також клінічної та експериментальної фармакології.

У сучасній антиішемічній терапії широко відома метаболічна концепція, яка полягає в нормалізації окиснювальних процесів (зниження окиснення жирних кислот і посилення окиснення глюкози) і, як наслідок, підвищення ефективності використання кисню. Проте дослідження останніх років довели надзвичайну важливість гемодинамічної концепції, що полягає, перш за все, у корекції дисфункції ендотелію судин і компенсації порушеного кровообігу. У кінцевому підсумку обидва підходи підсилюють адаптацію тканин до функціонування за умов зниженої доставки кисню і, як наслідок, сприяють збереженню їхньої структури, цілісності та функціональної активності [1, 3].

Цікавим рішенням щодо оптимізації сучасної антиішемічної терапії шляхом комбінування метаболічної та гемодинамічної концепцій є поєднане застосу-

вання попередників і аналогів карнітину – мельдонію і γ -бутиробетайну (ГББ) у складі комбінованого препарату «Капікор» виробництва АТ «Олайн-фарм» (Латвія). Фармакодинамічні переваги сумісного застосування даних речовин характеризуються явищем синергічного феномена у вигляді взаємного потенціювання їхніх ефектів.

Мета дослідження – експериментальне вивчення впливу препарату «Капікор» на ендотеліальну дисфункцію (ЕД) у щурів за умов розвитку гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) порівняно з монокомпонентами препарату – мельдонієм (Мілдронатом) і ГББ.

Матеріали та методи. Експерименти проводили відповідно до директиви Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [4].

Вивчення церебропротекторних властивостей препарату «Капікор» проведено на моделі ГПМК [5, 6] на 90 білих нелінійних щурах, обох статей, масою 180–200 г, які були розподілені на 5 дослідних груп наступним чином: 1 група – інтактний контроль (10 тварин); 2 група – контрольна патологія (20 тварин); 3 група – щури з ГПМК, що отримували Капікор у дозі 56,5 мг/кг (за сумою діючих речовин), що відповідає ED_{50} за церебропротекторною активністю (20 тварин) [7]; 4 група – щури з ГПМК, які отримували Мілдронат в еквівалентній дозі 42,4 мг/кг (20 тварин); 5 група – щури з ГПМК, які отримували субстанцію ГББ в еквівалентній дозі 14,1 мг/кг (20 тварин).

Починаючи з першого дня експерименту й протягом 20 днів усі тварини

3–5 груп отримували досліджуваний і референтні препарати у відповідних дозах, щодня одноразово шляхом внутрішньошлункового (в/ш) введення за допомогою зонда у вигляді водних розчинів або суспензій загальним об'ємом 0,5 мл. Тварини груп інтактного контролю та контрольної патології отримували еквівалентну кількість фізіологічного розчину.

На 5 добу дослідження через 1 год після введення препаратів у тварин проводили відтворення ГПМК шляхом білатеральної оклюзії загальних сонних артерій [3, 5, 6, 8]. Незворотну перев'язку судин проводили під етаміналь-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньоочеревинно) [9, 10]. Для цього шляхом хірургічного доступу виділяли загальні сонні артерії, акуратно відокремлювали від блукаючого нерва, підводили під них шовкові лігатури та перев'язували, потім рану пошарово зашивали й проводили її антисептичну обробку [2, 10].

У ході експерименту в тварин оцінювали вміст у крові стабільних метаболітів NO_x , уміст у гомогенаті мозку NO-синтази I і II типів; уміст у сироватці крові ендотеліну-1 та васкулоендотеліального фактора росту (ВЕФР). Методами імуноферментного аналізу (ІФА) визначали вміст наступних маркерів ЕД: у гомогенаті мозку – NO-синтази I і II типів, у сироватці крові – ендотеліну-1 і ВЕФР за допомогою наступних наборів виробництва «BlueGene Biotech» (Китай), призначених саме для досліджень на щурах: для визначення вмісту нейрональної NO-синтази (I типу) – «Rat Neuronal Nitric Oxide Synthase 1 (NOS1) Elisa kit» (кат. № E02N0069, сер. № 20141117); для визначення індукцйельної NO-синтази (II типу) – «Rat Inducible Nitric Oxide Synthase 2 (NOS2) Elisa kit» (кат. № E02I0396, сер. № 20141117); для визначення ендотеліну-1 – «Rat Endothelin 1 (ET-1) Elisa kit» (кат. № E02E0040, сер. № 20141117); для визначення ВЕФР – «Rat Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Elisa kit» (кат. № 11 E02V0010, сер. № 20141117). При роботі з біоматеріалом у ході біохімічних досліджень дотримувалися рекомендацій, викладе-

них в інструкціях до відповідних наборів [11–14].

Загальну статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента та непараметричних методів аналізу (Mann-Whitney U Test) за допомогою комп'ютерної програми STATISTICA 7.0, StatPlus 2009 і MS Exel 2007 [15–17] і представляли у вигляді порівняльних таблиць з результатами різних груп.

Результати та їх обговорення. Результати вивчення динаміки маркерів ЕД у щурів з ГПМК під впливом Капікору і референтних препаратів наведено в таблицях 1 і 2.

Аналіз показників функціонального стану судинного ендотелію тканини головного мозку в інтактній групі показав, що в нормі рівень NOS-1 у гомогенаті мозку становить $(1,949 \pm 0,068)$ мкг/мг білка, а NOS-2 – $(0,079 \pm 0,004)$ мкг/мг білка, при цьому співвідношення даних ізоформ NO-синтази склало 24,9 (табл. 1). Дана картина показує, що при знаходженні ендотелію судин головного мозку в стані фізіологічного балансу експресія нейрональної NO-синтази перевищує індукцйельну в 25 разів, що відповідає загальноприйнятим уявленням. У такій ситуації саме NOS-1 забезпечує фізіологічну концентрацію NO, яка підтримує судинний тонус у нормальному стані, про що можна було судити за вмістом його стабільних метаболітів – NO_x . Так, при порівняльному вивченні вмісту фактора вазодилатації (NO_x) і вазоконстрикції (ендотелін-1) у крові інтактних тварин було з'ясовано, що концентрація NO_x становить $(13,3 \pm 0,5)$ мкмоль/л, а ендотеліну-1 – $(4,41 \pm 0,22)$ пг/мл, що забезпечує їхнє умовне співвідношення на рівні 3,0 (табл. 2).

Таким чином, у проведеному експерименті рівноважний стан системи судинного ендотелію мозку в інтактних щурів характеризується наступними показниками двох базових співвідношень: NOS-1 / NOS-2 – 24,9 і NO_x / ендотелін-1 – 3,0. При цьому клітини головного мозку знаходяться в умовах нормальної мікроциркуляції, а, отже, достатнього надходження кисню та корисних речовин. Про це свідчить

Таблиця 1

Уміст ізоформ NO-синтази в гомогенаті мозку щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу за впливу Капікору та референтних препаратів, $M \pm m$

Дослідна група	Нейрональна NO-синтаза (NOS-1), мкг/мг білка	Індуцибельна NO-синтаза (NOS-2), мкг/мг білка	NOS-1/NOS-2
Інтактний контроль (n = 10)	1,949 $\pm$ 0,068	0,079 $\pm$ 0,004	24,9 $\pm$ 0,8
<i>5 доба розвитку патології</i>			
Контрольна патологія (n = 5)	1,028 $\pm$ 0,084 ¹	0,091 $\pm$ 0,007	11,3 $\pm$ 0,3 ¹
Капікор (n = 7)	1,504 $\pm$ 0,058 ^{1, 2, 3, 4}	0,075 $\pm$ 0,005	20,4 $\pm$ 1,3 ^{1, 2, 3, 4}
Мілдронат (n = 6)	1,118 $\pm$ 0,043 ¹	0,082 $\pm$ 0,006	13,7 $\pm$ 0,5 ^{1, 2}
γ-бутиробетайн (n = 6)	1,260 $\pm$ 0,061 ^{1, 2}	0,085 $\pm$ 0,005	15,3 $\pm$ 1,7 ^{1, 2}
<i>15 доба розвитку патології</i>			
Контрольна патологія (n = 5)	1,197 $\pm$ 0,061 ¹	0,832 $\pm$ 0,066 ¹	1,5 $\pm$ 0,2 ¹
Капікор (n = 7)	1,692 $\pm$ 0,052 ^{1, 2, 3, 4}	0,160 $\pm$ 0,007 ^{1, 2, 3, 4}	10,7 $\pm$ 0,6 ^{1, 2, 3, 4}
Мілдронат (n = 6)	1,417 $\pm$ 0,059 ^{1, 2}	0,413 $\pm$ 0,025 ^{1, 2, 4}	3,5 $\pm$ 0,3 ^{1, 2, 4}
γ-бутиробетайн (n = 5)	1,355 $\pm$ 0,071 ^{1, 2}	0,595 $\pm$ 0,032 ^{1, 2}	2,3 $\pm$ 0,2 ^{1, 2}

Примітка. Тут і в табл. 2: ¹відмінності вірогідні порівняно з групою інтактних тварин ($p \leq 0,05$); ²відмінності вірогідні порівняно з групою контрольної патології ($p \leq 0,05$); ³відмінності вірогідні порівняно з групою тварин, що отримували Мілдронат ($p \leq 0,05$); ⁴відмінності вірогідні порівняно з групою тварин, що отримували ГББ ($p \leq 0,05$); n – кількість тварин по завершенню експерименту.

Таблиця 2

Динаміка деяких маркерів ендотеліальної дисфункції в щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу за впливу Капікору та референтних препаратів, $M \pm m$

Дослідна група	NO _x крові, мкмоль/л	Ендотелін-1 крові, пг/мл	NO _x / ендотелін-1	ВЕФР крові, пг/мл
Інтактний контроль (n = 10)	13,3 $\pm$ 0,5	4,41 $\pm$ 0,22	3,03 $\pm$ 0,06	42,8 $\pm$ 2,1
<i>5 доба розвитку патології</i>				
Контрольна патологія (n = 5)	8,2 $\pm$ 0,4 ¹	9,03 $\pm$ 0,35 ¹	0,91 $\pm$ 0,04 ¹	257,3 $\pm$ 17,7 ¹
Капікор (n = 7)	12,7 $\pm$ 0,4 ^{2, 3}	6,37 $\pm$ 0,39 ^{1, 2, 3, 4}	2,03 $\pm$ 0,10 ^{1, 2, 3, 4}	127,6 $\pm$ 7,8 ^{1, 2, 3, 4}
Мілдронат (n = 6)	8,5 $\pm$ 0,3 ¹	8,03 $\pm$ 0,58 ¹	1,08 $\pm$ 0,06 ^{1, 2}	213,6 $\pm$ 15,4 ¹
γ-бутиробетайн (n = 6)	12,2 $\pm$ 0,6 ^{2, 3}	7,86 $\pm$ 0,40 ^{1, 2}	1,56 $\pm$ 0,10 ^{1, 2, 3}	180,7 $\pm$ 11,6 ^{1, 2}
<i>15 доба розвитку патології</i>				
Контрольна патологія (n = 5)	36,2 $\pm$ 2,0 ¹	8,08 $\pm$ 0,34 ¹	4,48 $\pm$ 0,13 ¹	231,3 $\pm$ 18,5 ¹
Капікор (n = 7)	17,7 $\pm$ 0,9 ^{1, 2, 3, 4}	6,16 $\pm$ 0,35 ^{1, 2}	2,90 $\pm$ 0,16 ^{2, 3, 4}	105,5 $\pm$ 6,0 ^{1, 2, 3, 4}
Мілдронат (n = 6)	25,8 $\pm$ 1,5 ^{1, 2, 4}	7,23 $\pm$ 0,43 ¹	3,58 $\pm$ 0,08 ^{1, 2, 4}	161,9 $\pm$ 5,3 ^{1, 2, 4}
γ-бутиробетайн (n = 5)	30,8 $\pm$ 1,2 ^{1, 2}	7,61 $\pm$ 0,41 ¹	4,06 $\pm$ 0,10 ^{1, 2}	216,3 $\pm$ 11,8 ¹

концентрація ВЕФР – найчутливішого маркера гіпоксії ендотеліоцитів, уміст якого в крові тварин інтактної групи склав $(42,8 \pm 2,1)$ пг/мл (табл. 2).

При розвитку у тварин ішемії головного мозку спостерігали виражений дисбаланс системи судинного ендотелію з усіма «класичними» ознаками ЕД, що відповідають сучасним уявленням. Так, на 5 добу розвитку патології вміст у тканині мозку NOS-1 достовірно знижувався порівняно з інтактним контролем у 1,9 разу і досягав 1,028 мкг/мг білка, а концентрація NOS-2 залишалася на рівні інтактної групи, що призводило до зниження співвідношення NOS-1/NOS-2 у 2,2 разу (табл. 1). Дана ситуація пояснюється незначною активністю вільнорадикальних і деструктивних процесів у тканинах мозку в гострий період ішемії, які є пусковим механізмом активації індукцйбельної ізоформи NO-синтази, що викликає, у свою чергу, гіперпродукцію NO, утворення радикала пероксинітриду, посилення каскаду вільнорадикальних реакцій, деструкцію та апоптоз клітин. Сама ж ішемія тканин головного мозку призводить, у першу чергу, до зниження експресії в ній нейрональної NO-синтази та відповідного зменшення концентрації оксиду азоту, що проявлялося зменшенням вмісту в крові його метаболітів NO_x у 1,6 разу (табл. 2).

Зниження на 5 добу в крові щурів з ГПМК фактора вазодилатації оксиду азоту призводило до відповідного посилення фактора вазоконстрикції ендотеліну-1, уміст якого збільшувався в 2,0 разу й викликав достовірне зниження співвідношення NO_x /ендотелін-1 у 3,3 разу до 0,91 (табл. 2). Показник ВЕФР у крові тварин при цьому достовірно збільшувався в 6,1 разу порівняно з рівнем в інтактних тварин і досягав максимального значення – $(257,3 \pm 17,7)$ пг/мл, що свідчить про виражену ішемію клітин головного мозку й відповідає гострій фазі розвитку ГПМК у щурів.

Станом на 15 день спостережень у тварин посилювалися компенсаторні процеси, які певною мірою зменшували дисфункцію судинного ендотелію. Так, уміст NOS-1 у гомогенаті мозку збіль-

шувався на 11 % порівняно з 5 добою, але не досягав інтактного рівня. Крім того, спостерігали виражене посилення вільнорадикальних і деструктивних процесів, про що свідчить різке збільшення вмісту NOS-2 – у 10,5 разу порівняно з інтактним контролем. При цьому співвідношення NOS-1/NOS-2 знижувалося до 1,5, що в 16,7 разу менше показників норми (табл. 1). Дана ситуація викликала відповідне підвищення вмісту NO_x у крові щурів у 4,4 разу порівняно з попереднім терміном спостережень, що склало 36,2 мкмоль/л і було зумовлено підвищенням умісту індукцйбельної NO-синтази. У свою чергу, ендотелін-1 крові дещо знижувався до 8,08 пг/мл, а співвідношення NO_x /ендотелін-1 зросло в 4,5 разу за рахунок збільшення концентрації оксиду азоту й було достовірно вищим, ніж у групі інтактного контролю. Уміст ВЕФР у крові тварин порівняно з 5 добою спостережень трохи знижувався, але все ж був достовірно вищим за нормальний рівень (табл. 2).

При використанні як церебропротектора Капікору в щурів з ГПМК спостерігали виражену нормалізацію ЕД. Під його впливом уміст у гомогенаті мозку NOS-1 на 5 день збільшувався в 1,5 разу порівняно з групою контрольної патології, співвідношення NOS-1/NOS-2 склало 20,4, що лише на 22 % менше, ніж у інтактних тварин (табл. 1). Також під впливом Капікору спостерігали нормалізацію балансу факторів вазодилатації та вазоконстрикції. Так, концентрація NO_x у крові щурів була на рівні інтактного контролю, а ендотеліну-1 – у 1,4 разу вищою, що призводило до їхнього співвідношення – 2,03, яке, у свою чергу, було в 2,0 разу вищим, ніж у нелікованих тварин (табл. 2). Показник ВЕФР під впливом Капікору також знижувався в 2,0 разу достовірно щодо контрольної патології, що свідчить про зменшення гіпоксії мозку тварин.

На 15 добу розвитку ГПМК Капікор чинив ще більший позитивний вплив на дисфункцію ендотелію судин головного мозку. Так, уміст NOS-1 у гомогенаті підвищувався ще більше та сягав 1,692 мкг/мг білка, що було в 1,4 разу вищим, ніж у контрольній групі. У той

самий час рівень NOS-2 був знижений порівняно з нелікованими тваринами в 5,2 разу, у зв'язку з чим співвідношення NOS-1/NOS-2 склало 10,7, що було достовірно більшим, ніж у групі контрольної патології, але, незважаючи на це, не досягало нормального рівня (табл. 1). Уміст метаболітів NO в крові тварин під впливом Капікору нормалізувався й був нижчим, ніж у тварин групи контрольної патології в 2 рази. Показник ендотеліну-1 також достовірно знижувався до 6,61 пг/мл, співвідношення NOX/ендотелін-1 склало 2,9, що відповідає інтактному рівню. Концентрація ВЕФР у крові тварин достовірно знижувалася, і її значення досягало 105,0 пг/мл, що в 2,3 разу менше, ніж в групі контрольної патології (табл. 2). Слід зазначити, що за впливом на більшість маркерів ЕД протягом усього експерименту Капікор достовірно перевершував активність препаратів порівняння Мілдронату і ГББ, за винятком вмісту ендотеліну-1 у крові щурів на 15 день розвитку ГПМК.

При використанні для лікування щурів з ГПМК Мілдронату спостерігали певний позитивний вплив на дисфункцію судинного ендотелію, але в меншій мірі, ніж при введенні Капікору. Так, на 5 день розвитку ГПМК вплив Мілдронату був слабо вираженим, оскільки вміст NOS-1 у гомогенаті мозку був на рівні контрольної патології, а NOS-2 – інтактного контролю. При цьому співвідношення NOS-1/NOS-2 знижувалося порівняно з нелікованою групою в 1,5 разу, але не досягало показників інтактних тварин (табл. 1). Рівень метаболітів NO, ендотеліну-1, ВЕФР у крові тварин також відповідав показникам контрольної групи, а співвідношення NO_x/ендотелін-1 дещо збільшувалося (достовірно) і свідчило про незначне зміщення рівноваги ендотеліальної системи в бік вазодилатації (табл. 2).

Найзначущий нормалізуючий вплив Мілдронату на ЕД був на 15 день розвитку ГПМК. При цьому порівняно з контрольною патологією в тканині мозку тварин уміст NOS-1 був збільшеним у 1,2 разу, а NOS-2 – зменшеним у 2,0 разу (в обох випадках достовірно). Співвідношення NOS-1/NOS-2 при

цьому було більшим у 2,3 разу, ніж у нелікованих щурів і склало 3,5 (табл. 1). Показник концентрації NO_x у крові тварин знижувався в 1,4 разу порівняно з контрольною патологією, ендотелін-1 залишався на тому самому рівні, їхнє співвідношення склало 3,58 і було достовірно нижчим, ніж у групи контрольної патології, але нормального рівня не досягало (табл. 2). Показник ВЕФР крові щурів під впливом Мілдронату також нормалізувався й був статистично меншим, ніж у нелікованих тварин, але до рівня інтактних значень не знижувався. Слід зазначити, що за ступенем впливу на динаміку маркерів ЕД Мілдронат лише на 15 день розвитку ГПМК за всіма показниками перевершував ГББ, за винятком вмісту нейрональної NO-синтази та ендотеліну-1, проте при цьому поступався Капікору, особливо за швидкістю розвитку нормалізуючого ефекту. Дана ситуація пояснюється відсутністю в фармакодинаміці Мілдронату безпосереднього впливу на NO-синтазу I типу на відміну від Капікору, що становить перевагу останнього та зумовлено наявністю в його складі ГББ.

Субстанція ГББ впливала на ЕД у щурів з ГПМК тільки в гостру фазу розвитку ішемії та за деякими показниками статистично достовірно перевершувала Мілдронат, але поступалася Капікору. Так, на 5 день спостережень під її впливом порівняно з групою контрольної патології достовірно збільшувався вміст NOS-1 у гомогенаті мозку та співвідношення NOS-1/NOS-2 (табл. 1). Концентрація метаболітів NO була на рівні інтактного контролю, а ендотеліну-1 – на 15 % менше, ніж у нелікованих тварин, їхнє співвідношення при цьому склало 1,56, що достовірно вище, ніж у групі контрольної патології (табл. 2). Уміст ВЕФР у крові тварин під впливом ГББ також був достовірно знижений порівняно з нелікованою групою – 180,7 пг/мг, що свідчить про зменшення гіпоксії головного мозку. До кінця експерименту ступінь позитивного впливу ГББ на дисфункцію судинного ендотелію в щурів з церебральною ішемією знижувався, що може бути пояснено посиленням компенсаторних проце-

сів у тканинах мозку. При цьому ГББ, як і раніше, достовірно нормалізував усі вивчені маркери ЕД, за винятком концентрації в крові ендотеліну-1 і ВЕФР, проте рівня інтактного контролю ці показники не досягали. Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок, що суттєвим елементом механізму церебропротекторної дії Капікору при використанню режимі введення, що принципово й вигідно відрізняє його від препаратів порівняння, є виражений нормалізуючий вплив на дисфункцію ендотелію судин головного мозку. Серед позитивних особливостей корекції ЕД під впливом Капікору слід зазначити високу швидкість розвитку даного ефекту, що пов'язано з безпосереднім впливом препарату на нейрональну NO-синтазу завдяки наявності в його складі ГББ на фоні блокування мельдонієм його метаболічних перетворень.

Цікавою особливістю є також те, що Капікор і, у меншій мірі, мельдоній призводять до зниження вмісту індукбельної NO-синтази, яка викликає гіперпродукцію NO, утворення пероксинітриду та руйнування клітин. Даний ефект Капікору реалізується завдяки його метаболічним властивостям, які дозволяють оптимізувати енергопродукцію клітин, забезпечити їхнє preconditionування та зменшити подальшу деструкцію за умов ішемії. Усе це здійснюється завдяки наявності мель-

донію в складі Капікору й дозволяє зменшити ініціювання NOS-2, а також його наслідки.

Нормалізація балансу між нейрональною та індукбельною ізоформами NO-синтази призводить, у свою чергу, до зміщення співвідношення факторів вазодилатації та вазоконстрикції в сторону зниження судинного тонуусу, а, отже, нормалізації гемодинаміки. Загалом вищеописані ефекти сприяють посиленню мікроциркуляції в тканинах головного мозку тварин, оптимізації в них метаболічних процесів і зменшення їхньої гіпоксії, що підтверджується динамікою показників ВЕФР.

Висновки

1. При ГПМК у щурів Капікор, який вводили внутрішньошлунково в дозі 56,5 мг/кг щоденно протягом 20 днів, нормалізує динаміку маркерів ЕД.
2. За рівнем церебропротекторної активності Капікор за сукупністю досліджених показників достовірно перевершує активність референс-препарату гамма-бутиробетаїну, а за низкою параметрів – і вплив Мідронату.
3. Результати проведеного дослідження доводять доцільність подальшого вивчення Капікору з метою впровадження в клінічну практику як засобу церебропротекторної дії.

1. Cardiovascular diseases (CVDs) [Electronic Resource] // Fact Sheet No. 317. – WHO, 2015. – Mode of access : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>.
2. World Health Statistics 2012. – Geneva : WHO, 2012. – 176 p.
3. Experimental models of brain ischemia: a review of techniques, magnetic resonance imaging, and investigational cell-based therapies / A. Canazza, L. Minati, C. Boffano [et al.] // *Frontiers in Neurology*. – 2014. – V. 5, Article 19. – 15 p. – Doi : 10.3389/fneur.2014.00019.
4. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
5. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов: Методические рекомендации ГФЦ МЗ Украины / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев [и др.]. – Киев, 2010. – 81 с.
6. Farkas E. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: A model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases / E. Farkas, P.G.M. Luiten, F. Bari // *Brain Research Reviews*. – 2007. – V. 54, № 1. – P. 162–180.
7. Жулай Т. С. Дослідження дозозалежності церебропротекторного ефекту препарату «Капікор» за умов експерименту / Т. С. Жулай, С. К. Шебеко // *Клінічна фармація*. – 2016. – Т. 20, № 3. – С. 44–48.
8. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke / T. M. Woodruff, J. Thundiyil, Sung-Chun Tang [et al.] // *Molecular Neurodegeneration*. – 2011. – V. 6, № 11. – 19 p. – Doi: 10.1186/1750-1326-6-11.
9. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации ; под ред. А. В. Стефанова. – Киев: Авиценна, 2002. – 528 с.

10. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays; Ed. H. G. Vogel. – [3rd edition.] – Berlin : Springer-Verlag, 2008. – 2071 p.
11. Rat Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Elisa kit : Manual [Електронний ресурс]. – Shanghai : BlueGene Biotech CO., LTD, 2012. – 12 p. – Режим доступу : <https://app.box.com/s/ea261ecd4055a7a80d08>.
12. Rat Endothelin 1 (EDN1) Elisa kit : Manual [Електронний ресурс]. – Shanghai : BlueGene Biotech CO., LTD, 2012. – 12 p. – Режим доступу : <https://app.box.com/s/32167d9d934e6eed1da4>.
13. Rat Inducible nitric oxide synthase (iNOS) Elisa kit : Manual [Електронний ресурс]. – Shanghai : BlueGene Biotech CO., LTD, 2012. – 12 p. – Режим доступу : <https://app.box.com/s/2ca13ca46d308b093265>.
14. Rat Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Elisa kit : Manual [Електронний ресурс]. – Shanghai : BlueGene Biotech CO., LTD, 2012. – 12 p. – Режим доступу : <https://app.box.com/s/4d1d0f8af68b-daa34d89>.
15. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – [3-е изд.] – Москва : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
16. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – [2-е изд., перераб. и доп.]. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304 с.
17. Трухачева Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 379 с.

І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, І. А. Отрішко

Вивчення впливу препарату «Капикор» на перебіг ендотеліальної дисфункції в щурів з церебральною ішемією

Мета дослідження – експериментальне вивчення впливу препарату «Капикор» на ендотеліальну дисфункцію в щурів за умов розвитку гострого порушення мозкового кровообігу повіряно з монокомпонентами препарату – мельдонієм (Мілдронатом) і гамма-бутиробетаїном.

Вивчення церебропротекторних властивостей препарату «Капикор» проведено на моделі гострого порушення мозкового кровообігу на 90 білих нелінійних щурах.

При гострому порушенні мозкового кровообігу в щурів Капикор в дозі 56,5 мг/кг, який вводили тваринам протягом 20 днів, нормалізує динаміку маркерів ендотеліальної дисфункції.

Результати вивчення маркерів ендотеліальної дисфункції свідчать про те, що Капикор достовірно підвищує вміст у біоматеріалі тварин NO-синтази І типу за умов церебральної ішемії. Це підтверджує посилення синтезу оксиду азоту і, як наслідок, вазодилатації на тлі дисфункції судинного ендотелію. За рівнем церебропротекторної активності Капикор за сукупністю досліджених показників достовірно перевершує активність референс-препарату гамма-бутиробетаїну, а за низкою параметрів – і вплив Мілдронату.

Результати проведеного дослідження доводять доцільність подальшого вивчення Капикору з метою впровадження в клінічну практику як засобу церебропротекторної дії.

Ключові слова: ендотеліальна дисфункція, мельдоній, гамма-бутиробетаїн, церебральна ішемія, Капикор

И. А. Зупанец, С. К. Шебеко, И. А. Отришко

Изучение влияния препарата «Капикор» на течение эндотелиальной дисфункции у крыс с церебральной ишемией

Цель исследования – экспериментальное изучение влияния препарата «Капикор» на эндотелиальную дисфункцию у крыс в условиях развития острого нарушения мозгового кровообращения по сравнению с монокомпонентами препарата – мельдонием (Милдронатом) и гамма-бутиробетаином.

Изучение церебропротекторных свойств препарата «Капикор» проведено на модели острого нарушения мозгового кровообращения на 90 белых нелинейных крысах.

При остром нарушении мозгового кровообращения у крыс Капикор в дозе 56,5 мг/кг, который вводили животным внутримышечно в течение 20 дней, нормализует динамику маркеров эндотелиальной дисфункции.

Результаты изучения маркеров эндотелиальной дисфункции свидетельствуют о том, что Капикор достоверно повышает содержание в биоматериале NO-синтазы І типа у животных с церебральной ишемией. Это подтверждает усиление синтеза оксида азота и, как следствие, вазодилатации на фоне дисфункции сосудистого эндотелия. По уровню церебропротекторной активности Капикор по совокупности исследованных показателей достоверно превосходит активность референс-препарата гамма-бутиробетаина, а по ряду параметров – и влияние Милдроната.

Результаты проведенного исследования обосновывают целесообразность дальнейшего изучения Капикора с целью внедрения в клиническую практику в качестве средства церебропротекторного действия.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, мельдоний, гамма-бутиробетаин, церебральная ишемия, Капикор

I. A. Zupanets, S. K. Shebeko, I. A. Otrishko

Study of the drug «Kapikor» influence on the endothelial dysfunction in rats with cerebral ischemia

The aim of the work was an experimental study of the effect of the drug «Kapikor» on endothelial dysfunction in rats under conditions of acute cerebrovascular accident development in comparison with the monocomponents of the drug – meldonium (Mildronate) and gamma-butyrobetaine.

The study of the cerebroprotective properties of the drug «Kapikor» was carried out on the model of acute impairment of cerebral circulation on 90 white nonlinear rats.

Under acute disorders of cerebral circulation in rats Kapikor at dose of 56,5 mg/kg for 20 days normalizes the dynamic of endothelial dysfunction markers.

The results of study endothelial dysfunction markers indicate that Kapikor significantly increases the content of NO-synthase of I type in brain of animals in case of cerebral ischemia. This confirms the increased synthesis of nitric oxide and, as a consequence, of vasodilation on the background of the vascular endothelium dysfunction. The level of cerebroprotective activity of Kapikor according with investigated parameters was significantly superior to the activity of the reference drug gamma-butyrobetaine, and by number of parameters – the influence of Mildronate.

The results of the study substantiate the expediency of further study of Kapikor for implementation in clinical practice as a drug with cerebroprotective action.

Key words: endothelial dysfunction, meldonium, gamma-butyrobetaine, cerebral ischemia, Kapikor

Надійшла: 20 лютого 2017 р.

Контактна особа: Отрішко Інна Анатоліївна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 27, вул. Пушкінська, м. Харків, 61057. Тел.: + 38 0 50 859 72 89. Електронна пошта: otrinka@mail.ru

К. О. Калько¹, С. М. Дроговоз²

Циркадіанна залежність гепатопротекторної активності Антралю на моделі гострого парацетамолового гепатиту в щурів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

¹Кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації²Кафедра фармакології

Ключові слова: гепатопротекторна активність, парацетамоловий гепатит, Антраль, біоритми

Згідно з результатами досліджень з хронобіології та хрономедицини, одним з перспективних напрямів оптимізації лікування захворювань людини є розробка хронодетермінованих методів терапії з урахуванням хронобіологічних особливостей показників функціонального стану організму за фізіологічних умов та їх порушень у разі патології [1–3]. Загальновідома перспективність хронофармакологічного підходу, оскільки дозволяє застосовувати відомі та добре вивчені препарати, мінімізуючи або повністю нівелюючи їхні побічні ефекти.

З огляду на широку розповсюдженість захворювань гепатобіліарної системи та соціальну значущість гостро постає питання вдосконалення схем їхнього лікування. Згідно зі статистичними даними, частота ушкодження печінки лікарськими засобами рівнозначна частоті гострих та хронічних вірусних гепатитів [4, 5]. Також спостерігається тенденція до росту захворювань печінки вірусної етіології [6]. Гепатобіліарна патологія характеризується спільною ланкою патогенезу – пошкодженням бар'єрної функції мембран гепатоцитів, що призводить до активації перекисного окиснення ліпідів. Тому провідну роль у лікуванні хронічних захворювань печінки відіграють препарати, які сприяють нормалізації метаболічних процесів та структурно-функціональній цілісності клітинних мембран гепатоцитів, знижують інтенсивність вільнорадикального

окиснення. До них відноситься вітчизняний препарат з доведеною гепатопротекторною ефективністю – Антраль з протизапальною, антиоксидантною, мембраностабілізуювальною та імуністимулювальною активностями [7–9]. Виразність вищезазначених фармакологічних активностей гепатопротекторів залежить від циркадіанних ритмів діяльності печінки та організму в цілому [1, 2]. Виходячи з вищенаведеного, проведення досліджень, що допоможуть встановити «хронопортрети» гепатопротекторів, є важливою проблемою сучасної експериментальної та клінічної фармакології, гепатології. Відсутність інформації щодо раціонального застосування Антралю з урахуванням впливу хроноритмів спонукає до проведення відповідних досліджень з метою встановлення циркадіанної залежності прояву гепатопротекторної активності цього препарату.

Мета дослідження – встановлення циркадіанної залежності гепатопротекторної активності Антралю на моделі гострого парацетамолового гепатиту в щурів. Поставлене завдання вирішується шляхом добового моніторингу застосування Антралю в лікувально-профілактичному режимі з визначенням часу доби, коли даний препарат виявляє найвиразнішу та мінімальну фармакологічну ефективність, що надалі дозволить оптимізувати дозу прийому препарату. Адекватність використаної моделі підтверджується даними літератури про те, що ушкодження печінки парацетамолом за патогенезом подібне до багатьох інших уражень печінки лікарськими засобами [10].

Матеріали та методи. Вивчення циркадіанної залежності прояву гепатопротекторної дії Антралю проводили на моделі гострого однокденного парацетамолового гепатиту в щурів [11]. Лабораторних тварин (щури-самці масою 190–210 г) розподілили на групи відповідно до досліджуваного періоду доби: ранковий (09.00), денний (15.00), вечірний (21.00) та нічний (03.00) (табл. 1). У кожному з досліджуваних періодів було по три групи тварин: інтактний контроль ($n = 8$); модельна патологія (парацетамол) ($n = 9$); Антраль ($n = 8$).

Модель гострого ушкодження печінки викликали одноразовим введенням парацетамолу в дозі 1000 мг/кг у вигляді суспензії на 2 % розчині крохмального гелю. Антраль у дозі 8 мг/кг щура вводили в лікувально-профілактичному режимі, а саме за 1 год і через 2 год після введення парацетамолу [11]. Тваринам груп інтактного контролю та модельної патології вводили внутрішньошлунково питну воду в еквівалентному об'ємі та режимі. Через 1 добу після введення токсичної дози парацетамолу щурів декапітували під наркозом. Гепатопротекторну дію препарату оцінювали за активністю аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) сироватки крові [12].

Визначення активності трансаміназ у сироватці крові проводили спектрофотометричним методом, за реакцією Райтмана-Френкеля з використанням стандартних наборів виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна), який базується на тому, що кінцеві продукти трансамінування (глутамінова та піровиноградна кислоти) реагують з динітрофенілгідразином у лужному середовищі з утворенням забарвленого комплексу. Інтенсивність забарвлення, яку вимірювали при 540 нм, прямо пропорційна активності ферменту [13].

Циркадіанну залежність гепатопротекторної активності Антралю досліджували у весняний сезон (березень 2015 р.). Тварин утримували в розпліднику ЦНДЛ НФаУ (м. Харків) за стандартних умов температурного режиму, вологості повітря та світлового режиму, що відповідав природній тривалості

світлового дня 12–13 год. З метою нівелювання впливу світлового фактора на синтез мелатоніну у вечірній та нічний періоди досліди проводили під інфрачервоною лампою [14]. Дані обробляли статистично за допомогою програми «Statistica 8,0». Використовували непараметричний критерій Манна-Уїтні. У разі порівняння статистичних показників було прийнято рівень значущості $p < 0,05$ [15]. Усі маніпуляції та евтаназію тварин проводили відповідно до міжнародних та національних вимог (Страсбург, 1986 р., м. Київ, 2001 р.) [16]. Протокол дослідження схвалено локальним етичним комітетом (протокол від 18 березня 2015 р. № 3).

Результати та їх обговорення. Парацетамол (парацетамінофен) – ненаркотичний анагетик з центральним механізмом дії, у процесі біотрансформації клітинами печінки утворює полярний високотоксичний метаболіт – N-ацетил-р-бензохінонімін, який взаємодіє з життєво важливими макромолекулами гепатоцитів, викликаючи некроз печінки в центральних і периферичних відділах печінкових часток уже через 24 год після його введення щурам у токсичних дозах. Моделювання гострого парацетамолового гепатиту в нічний період (03.00) характеризувалося зростанням активності АлАТ та АсАТ у 1,7 та 2,5 разу відповідно порівняно з групою інтактного контролю. Відтворення парацетамолового гепатиту ранком (09.00) призводило до достовірного зростання АлАТ та АсАТ у 2,5 та 3,0 разу відповідно. Тоді як моделювання патології вдень (15.00) супроводжувалося найменш виразними змінами активності маркерів цитолізу, зокрема, активність АлАТ – не змінювалася, АсАТ зростала в 1,5 разу. Токсична дія парацетамолу проявлялася найвиразніше при вечірньому моделюванні гепатиту (21.00) – активність АлАТ та АсАТ достовірно зростала в 3,4 разу (таблиця).

Зміни активності АлАТ та АсАТ є високоспецифічним та інформативним критерієм перебігу гепатиту, що дозволяє встановити тяжкість і поширеність патологічного процесу в печінці [17]. Також слід зазначити важливість та

Циркадіанна залежність гепатопротекторної активності Антралю на тлі гострого парацетамолового гепатиту в щурів (n = 8–9, M ± SEM)

Показник/ Група дослідних тварин		Досліджувані години доби			
		03.00	09.00	15.00	21.00
АлАТ, ммоль/(год · л)	Інтактний контроль	0,97 ± 0,13	0,94 ± 0,05	1,19 ± 0,09	0,87 ± 0,06
	Гепатит (модельна патологія)	1,68 ± 0,34*	2,36 ± 0,48*	1,26 ± 0,11	2,92 ± 0,24*
	↑ Зміна активності АлАТ порівняно з інтактним контролем (рази)	1,7	2,5	1,1	3,4
	Гепатит + Антраль (8 мг/кг)	1,60 ± 0,21	1,27 ± 0,24**	1,34 ± 0,36	1,83 ± 0,39**
	↓ Зміна активності АлАТ порівняно з модельною патологією, %	–	- 46	–	-37
АсАТ, ммоль/(год · л)	Інтактний контроль	0,74 ± 0,17	0,75 ± 0,10	0,95 ± 0,05	0,51 ± 0,10
	Гепатит (модельна патологія)	1,86 ± 0,25*	2,25 ± 0,25*	1,44 ± 0,18	1,75 ± 0,26*
	↑ Зміна активності АсАТ порівняно з інтактним контролем (рази)	2,5	3	1,5	3,4
	Гепатит + Антраль (8 мг/кг)	1,84 ± 0,15	1,54 ± 0,05**	1,41 ± 0,09	1,07 ± 0,11*
	↓ Зміна активності АсАТ порівняно з модельною патологією, %	–	- 32	–	- 39

Примітка. *Достовірні відмінності порівняно з групою інтактного контролю, $p < 0,05$; **достовірні відмінності порівняно з групою модельної патології, $p < 0,05$.

діагностичну раціональність зосередження уваги саме на зміні активності АлАТ та АсАТ при оцінці тяжкості патології, оскільки підвищення активності ферментів відображує первинні механізми, що розвиваються при пошкодженні гепатоцитів (порушення процесів окиснювального фосфорилювання, енергопродукції, метаболічних та ін., які в кінцевому результаті призводять до змін клітинної проникності та до зростання активності АлАТ та АсАТ). Це і зумовило вибір нами цих показників як найдостовірніших для оцінки циркадіанної залежності гепатопротекторної активності Антралю.

Як видно з даних таблиці, вираженість прояву гепатопротекторної активності Антралю характеризується циркадіанною залежністю. Зокрема, у періоди найвиразнішої токсичної дії парацетамолу (акрофаза) – ранок (09.00) та вечір (21.00) препарат найбільше проявляв сукупність властивих

йому фармакологічних ефектів [7, 8, 18], що відображається достовірним зменшенням активності трансміназ о 09.00 на 46 % – АлАТ та на 32 % – АсАТ, а о 21.00 – на 37 % (АлАТ) та 39 % (АсАТ). Тобто, введення препарату в лікувально-профілактичному режимі у ранковий та вечірній періоди характеризується вираженою гепатопротекторною дією, яка визначається сукупністю властивих Антралю антиоксидантної, протизапальної, мембраностабілізуювальної та інших видів активностей. У період бати фази (15.00) та мезору (09.00) токсичності парацетамолу, коли процес цитолізу в гепатоцитах був мінімальним, досліджуваний препарат не сприяв зменшенню токсичності введеного ксенобіотика, що може бути зумовлено циркадіанним станом організму щурів-самиць та хроноособливостями механізмів реалізації гепатопротективної дії Антралю при його застосуванні в вище вказаній

дозі та режимі. Автори-розробники оригінального препарату «Антраль» стверджують, що домінуючим фармакологічним ефектом, що забезпечує гепатопротекторну активність препарату є прояв антиоксидантних властивостей координаційної сполуки, що лежить в основі Антраля [19]. З однієї сторони, антирадикальний ефект Антраля реалізується втручанням препарату в процеси мікросомального окиснення шляхом конкурентних взаємодій з іоном заліза, що входить до складу сукцинатдегідрогеназної системи [7, 8]. Інгібування ферментних систем окиснювального фосфорилювання призводить до гальмування процесів ПОЛ. Із іншої сторони, процеси ПОЛ пригнічуються мефенамовою кислотою [19], так як Антраль – це алюмінію мефенамат. Інгібування ЦОГ також сприяє накопиченню арахідонової кислоти, яка позитивно впливає на стабілізацію клітинних мембран [20]. Ймовірно, саме добова залежність реалізації вищевказаних механізмів прояву антиоксидантної дії лежить в основі циркадіанної виразності гепатопротекторної активності даного препарату [21, 22]. Найвиразніші прояви токсичності парацетамолу ввечорі та ранком можуть бути зумовлені найменшим вмістом відновленого глутатіону в гепатоцитах саме в ці періоди, оскільки система глутатіону бере участь у метаболізмі цього ксенобіотику [23, 24]. Крім того, у вечірньо-нічний період, з настанням активного періоду життєдіяльності нічних тварин, до яких відносяться щури, навіть за фізіологічних умов спостерігається зростання активності ПОЛ через механізм активації симпато-адреналової системи [25]; а ГКС (акрофаза вмісту кортикостерону в щурів обох статей у

цей період) здатні знижувати фагоцитарну активність лімфоцитів і продукцію ними цитокинів [1, 2]. Також, для вечірнього періоду характерна батифаза вмісту клітин у тимусі та лімфатичних вузлах [26], а мелатонін та кортикостерон (вміст їх зростає у вечірньо-нічний період) через лімфоцити та нейтрофіли регулюють виділення комплексу прозапальних медіаторів: простагландинів, інтерлейкіну 1,2,6,12, ФНП- α , γ , інтерферону і ЦОГ-2 [1, 2, 27].

Висновки

Проведений аналіз циркадіанної залежності гепатопротекторної активності Антраля дозволяє виділити ранковий (09.00) та вечірній (21.00) періоди, в які препарат проявляв найвиразніший фармакологічний ефект, що підтверджується позитивною динамікою змін активності АЛАТ і АсАТ. Також, слід відмітити, що виразність фармакологічного ефекту Антраля залежить від ступеня тяжкості модельованого гепатиту – при мінімальній виразності патологічного процесу досліджуваний препарат проявляв мінімальну протективну дію (о 15.00 – найменш виразний розвиток патології, а о 03.00 – менш виразний порівняно з ранковим та вечірнім періодом) та чинив виразний гепатопротекторний ефект на тлі реєстрованої добової акрофази розвитку патологічного процесу (21.00 та 09.00 – максимум патологічних змін). Результати проведених досліджень підтверджують актуальність та доцільність подальших експериментальних та клінічних досліджень Антраля з метою розширення знань з хронофармакологічних та хронокінетичних властивостей цього препарату, що в кінцевому варіанті дозволить встановити його «хронопортрет».

1. Хронофармакологія для врача, провизора, студента: учебник-справочник; под редакцией проф. С. М. Дроговоз. – Харьков : «Титул», 2016. – 376 с.
2. Хронофармакологія наглядно (Хронофармакологія в таблицях и рисунках): Справочник – учебное пособие / С. М. Дроговоз [и др.]. – Харьков : Титул, 2014. – 128 с.
3. Вияснення раціональних умов режиму введення лікарських препаратів / С. М. Дроговоз, А. В. Кононенко, М. П. Тимофеев [и др.]. // Клінічна фармація: 20 років в Україні: матеріали Нац. конгр., 21–22 берез. 2013 р. – Харків, 2013. – С. 327.
4. Drug-related hepatotoxicity / M. E. McDonnell, L. E. Braverman, K. P. Patel [et al.]. // N. Engl. J. Med. – 2014. – V. 354. – P. 2191–2193.
5. Drug-induced hepatitis. Medline Plus. US National Library of Medicine and the National Institutes of Health website [Електронний ресурс] – Режим доступу –: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000226.htm>.

6. Mann D. A. Epigenetics in Liver Disease / D. A. Mann // *Hepatology*. – 2014 – V. 60, № 4. – P. 1418–1425.
7. Ефективність гепатопротектора антраля в складі комплексної терапії хворих псоріазом / А. М. Дашук [и др.] // Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції: матер. Наук. практ. конф. (з міжнародною участю), присвяченої 130-річчю кафедри дерматології, венерології і СНІДу, Харків 18–19 червня 2014 р. – Харків, 2014. – С. 82–86.
8. Використання антралю у комплексній терапії хворих на хронічний вірусний гепатит із супутнім стеатозом печінки / М. А. Дербак, Е. Й. Архів, В. Ю. Коваль, Я. С. Дербак // *Внутрішні хвороби*. – № 2 (41) – 2011. – С. 304–307.
9. Матвеев А. В. Гепатопротекторы. Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени / А. В. Матвеев. – Симферополь : ИТ «Ариал», 2013. – 384 с.
10. Evaluation of oxidative status in acetaminophen treated rat hepatocytes in culture / T. Rousar, O. Kucera, P. Krivakova [et al.] // *Physiol Res*. – 2009. – V. 58. – P. 239–246.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ ; под ред. чл.-корр. РАМН Р. У. Хабриева. – Москва : Медицина, 2005. – С. 683–686.
12. Gunawan B. K. Mechanism of drug-induced liver disease / B. K Gunawan, N. Kaplowitz // *Clin. Liver Dis*. – 2007. – V. 11 – P. 459–475.
13. Камышников В. С. Справочник по клинико-химической лабораторной диагностике : в 2 т. Т. 1 / В. С. Камышников. – [2-е изд.]. – Минск : Беларусь, 2002. – С. 382–395.
14. Семененко С. Б. Особливості структури хроноритмів екскреторної функції нирок за умов гіперфункції шишкоподібної залози / С. Б. Семененко // *Буковинський медичний вісник*. – Т. 18, № 2 (70). – 2014– С. 99–101.
15. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – [3-е изд.]. – Москва : Медиа Сфера, 2006. – 312 с.
16. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
17. Клиническая фармация: базовый учебник для студентов высш. фармац. учеб. заведений (фармац. фак.) IV уровня акредитации; [изд. дораб. и доп.]; под ред. В. П. Черных, И. А. Зупанца, И. Г. Купновицкой. – Харьков : Золотые страницы, 2015. – 1056 с.
18. Компендиум 2015 – лекарственные препараты; под ред. В. Н. Коваленко. – Киев : Морион, 2015. – 1408 с.
19. Мохорт М. А. Модифікація молекули n-(2,3-диметилфеніл)-антранілової кислоти – шлях до створення високоефективних лікарських засобів різних фармакотерапевтичних груп (огляд літератури та власних досліджень) / М. А. Мохорт, Н. М. Серединська, Л. М. Киричок – Журнал НАМН України. – 2012, Т. 18, № 2. – С. 152–160.
20. Біохімія: підручник; за загальною редакцією проф. А. Л. Загайко, проф. К. В. Александрової. – Харків : Вид-во «Форт», 2014 – 728 с.
21. Патент UA 106394 на корисну модель МПК (2016.01) A61K 31/00 A61P 1/16 Спосіб хронодетермінованої терапії медикаментозних гепатитів / К. О. Калько, С. М. Дроговоз, Т. К. Юдкевич // заяв. 26.10.2015; опубл. 25.04.2016. – Бюлетень №8/2016 – 3 ст.
22. Калько К. О. Вплив антраля на циркадіанні ритми прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на тлі хронодетермінованого парацетамолового гепатиту / К. О. Калько, С. М. Дроговоз, Л. І. Боряк // Ключові питання наукових досліджень у сфері медицини: зб. наук. праць за мат. Міжнародної наук. конф. 15-16 квітня 2016 р. – Одеса : Серія «Південна фундація медицина», 2016. – С. 18–22.
23. Вплив токсичних доз парацетамолу на циркадіанний ритм прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу / К. О. Калько, С. М. Дроговоз, Н. В. Захарко, Т. К. Юдкевич // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2016. – № 1 (47) – С. 81–86.
24. Дроговоз С. М. Оптимізація режиму прийому пара-ацетамінофенолу з врахуванням біоритмів печінки: інфор. Лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 276-2015 / С. М. Дроговоз, К. О. Калько, Н. В. Захарко. – Київ, 2015. – 4 с.
25. Особливості циркадіанної динаміки антиоксидантної системи та перекисного окислення ліпідів у щурів / К. О. Калько, С. М. Дроговоз, А. Ю. Позднякова, Н. В. Захарко // *Клінічна фармація*. – 2015. – № 4 – С. 52–57.
26. Шурлыгина А. В. Хронобиологические аспекты структурно-функциональной организации иммунной системы / А. В. Шурлыгина, В. А. Труфакин // *Успехи совр. биол.* – 1987. – Т. 104, № 2. – С. 268 – 280.
27. Продукция цитокинов клетками лимфоидных органов мышей под влиянием введения интерлейкина-2 в разное время суток / И. Г. Ковшик, А. В. Шульгина, А. Н. Силков [и др.] // *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. – 2004. – № 4. – С. 63–66.

К. О. Калько, С. М. Дроговоз

Циркадіанна залежність гепатопротекторної активності Антралю на моделі гострого парацетамолового гепатиту в щурів

Мета дослідження – встановлення циркадіанної залежності гепатопротекторної активності Антралю на моделі гострого парацетамолового гепатиту в щурів. Поставлене завдання вирішується шляхом добового моніторингу застосування Антралю в лікувально-профілактичному режимі з визначенням часу доби, коли даний препарат виявляє найвиразнішу та мінімальну фармакологічну ефективність, що в подальшому дозволить оптимізувати дозу прийому препарату. Циркадіанну залежність гепатопротекторної дії Антралю оцінювали за активністю ферментів цитолізу, оскільки саме зміни активності АлАТ і АсАТ є високоспецифічними та інформативними критеріями перебігу гепатиту.

Дослідження проводили на самицях щурів на моделі гострого парацетамолового гепатиту, який відтворювали одноразовим введенням парацетамолу (1000 мг/кг внутрішньошлунково) у наступні години доби: вранці (09.00), удень (15.00), увечорі (21.00) та вночі (03.00). Антраль вводили в лікувально-профілактичному режимі в дозі 8 мг/кг внутрішньошлунково за 1 год до та через 2 год після введення парацетамолу. Активність маркерів цитолізу в сироватці крові визначали через 24 год після введення ксенобіотика.

Встановлено, що виразність фармакологічного ефекту Антралю залежить від ступеня тяжкості модельованого гепатиту – при мінімальній виразності патологічного процесу досліджуваний препарат проявляв мінімальну протективну дію (о 15.00 – найменш виразні ознаки патології, а о 03.00 – менш виразні порівняно з ранковим та вечірнім періодом) та спричиняв виразний гепатопротекторний ефект на тлі реєстрованої добової акрофазі розвитку патологічного процесу (о 21.00 та 09.00 – максимум патологічних змін). Циркадіанна залежність здатності Антралю зменшувати активність маркерів цитолізу на тлі гострого парацетамолового гепатиту ймовірно зумовлена хронофармакодинамічними особливостями реалізації антиоксидантної та мембраностабілізуючої дії цього препарату. Результати проведених досліджень підтверджують актуальність та доцільність подальших експериментальних та клінічних досліджень Антралю з метою встановлення його розгорнутого «хронопортрету».

Ключові слова: гепатопротекторна активність, парацетамоловий гепатит, Антраль, біоритми

Е. А. Калько, С. М. Дроговоз

Циркадианная зависимость гепатопротекторной активности Антраля на модели острого парацетамолового гепатита у крыс

Цель исследования – установление циркадианной зависимости гепатопротекторной активности Антраля на модели острого парацетамолового гепатита у крыс. Поставленная задача решается путем суточного мониторинга применения Антраля в лечебно-профилактическом режиме с определением времени суток, когда этот препарат проявляет наиболее выраженную и минимальную гепатопротекторную активность, что в дальнейшем позволит оптимизировать дозу приема препарата. Циркадианную зависимость гепатопротекторного действия Антраля оценивали по активности ферментов цитолиза, поскольку именно изменение активности АлАТ и АсАТ является высокоспецифичным и информативным критерием течения гепатита.

Исследования проводили на самках крыс на модели острого парацетамолового гепатита, который воспроизводили однократным введением парацетамола (1000 мг/кг внутривентрально) в следующие периоды и часы суток: утром (09.00), днем (15.00), вечером (21.00) и ночью (03.00). Антраль вводили в лечебно-профилактическом режиме в дозе 8 мг/кг внутривентрально за 1 ч до введения парацетамола и через 2 ч после него. Активность маркеров цитолиза в сыворотке крови определяли через 24 ч после введения ксенобіотика.

Установлено, что выраженность фармакологического эффекта Антраля зависит от степени тяжести моделированного гепатита – при минимальной выраженности патологического процесса исследуемый препарат проявляет минимальное протективное действие (в 15.00 – наименее выраженные проявления патологии, а в 03.00 – менее выраженные по сравнению с утреним и вечерним периодом) и оказывал выраженный гепатопротекторный эффект на фоне зарегистрированной суточной акрофазы развития патологического процесса (в 21.00 и 09.00 – максимум патологических изменений). Циркадианная зависимость способности Антраля уменьшать активность маркеров цитолиза на фоне острого парацетамолового гепатита вероятно обусловлена хронофармакодинамическими особенностями реализации антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия этого препарата. Результаты проведенных исследований подтверждают актуальность и целесообразность дальнейших экспериментальных и клинических исследований Антраля с целью установления его развернутого хронопортрета.

Ключевые слова: гепатопротекторная активность, парацетамоловый гепатит, Антраль, биоритмы

K. O. Kalko, S. M. Drogovoz

Circadian dependence of Antral hepatoprotective activity on the model of acute paracetamol-induced hepatitis in rats

The aim of study was to determine the circadian dependence of hepatoprotective activity of Antral on the model of acute paracetamol-induced hepatitis in rats. This aim was reached by 24-h monitoring of Antral efficiency in treatment of acute paracetamol-induced liver damage and by defining the time of day when it shows the highest and the lowest hepatoprotective activity. As a result, this will enable to optimize the dose of the drug. The circadian dependence of Antral hepatoprotective action was evaluated by cytolysis markers since the changes in ALT and AST activities are a highly specific and informative criterion of hepatitis severity.

The study was conducted in female rats on the model of acute paracetamol-induced hepatitis, which was initiated by a single administration of paracetamol (1000 mg/kg intragastrically) as follows: in the morning (09.00), in the afternoon (15.00), in the evening (21.00) and at night (03.00). Antral was administered at a treatment dose of 8 mg/kg intragastrically 1 hour before and 2 h after paracetamol. Activity of the cytolysis markers in serum was determined 24 h after the administration of the xenobiotic.

It was found out that the strength of the pharmacological effect of Antral depends on the severity of hepatitis – at minimal severity the drug showed minimal protective effect (at 15.00 the activity of the pathological process was the lowest, and at 03.00 it was lower than in the morning and evening periods of observation) and pronounced hepatoprotective effect was registered at acrophase of pathological process development (21.00 and 09.00 – maximal pathological changes). Circadian dependence of the ability of Antral to reduce cytolysis markers in acute paracetamol-induced hepatitis is probably due to chronopharmacological peculiarities of antioxidant and membrane-stabilizing activity of this drug. The studies confirm relevance and feasibility of further experimental and clinical studies of Antral in order to determine its comprehensive chronoportrait.

Key words: hepatoprotective activity, paracetamol-induced hepatitis, Antral, biorhythms

Надійшла: 23 лютого 2017 р.

Контактна особа: Калько Катерина Олександрівна, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 96 085 02 54. Електронна пошта: kalko_sonkina@mail.ru

Н. О. Мархонь, В. І. Жилюк, А. Е. Лєвих, В. Й. Мамчур

Особливості змін ліпідограми крові щурів за метаболічного синдрому та фармакотерапії екстрактом плодів горобини звичайної та ресвератролом

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

Ключові слова: дисліпопротеїдемія, атеросклероз, метаболічний синдром, індекси атерогенезу, екстракт плодів горобини звичайної, ресвератрол

Останніми роками в світі збільшується захворюваність на метаболічний синдром (МС), який призводить до збільшення ризику розвитку кардіоваскулярних захворювань, атеросклеротичних серцево-судинних захворювань (ССЗ) і цукрового діабету. Формування атерогенних змін ліпідного профілю в разі МС обумовлено дією багатьох факторів ризику та полівалентністю патогенезу даного симптомокомплексу [1].

Атерогенна дисліпопротеїдемія (ДЛП) представляє собою не лише фактор ризику розвитку та прогресування атеросклерозу, а й одну з основних складових МС. Саме через це в комплексі заходів, спрямованих на максимальне зниження ризику розвитку ССЗ та їх ускладнень у хворих на МС, корекція ДЛП відіграє головну роль [1, 2]. Найчастішим варіантом атерогенної ДЛП у разі МС є ліпідна триада: підвищення вмісту тригліцеридів (ТГ) та ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) на фоні зниження рівня ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) у сироватці крові [1, 3].

За критеріями Adult Treatment Panel III (Третій звіт групи експертів Національного центру з охорони навколишнього середовища з виявлення, оцінки та лікування гіперхолестеринемії у дорослих) для скринінгу ДЛП застосовуються різні співвідношення ліпідограми – індекси атерогенності, що є незалежними предикторами ССЗ та дозволяють стежити за ефективністю методів

терапії гіперхолестеринемії [4]. Зважаючи на особливості атерогенної ДЛП за умов МС, пошук ранніх предикторів метаболічних порушень, асоційованих з ними хвороб та корекція порушень обміну холестерину (ХС) мають важливе медико-соціальне значення.

Тривале застосування класичних лікарських засобів синтетичного походження може представляти проблему через толерантність, довгострокову токсичність та вартість лікування, тому препарати рослинного походження можуть бути хорошою альтернативою [4]. Фармакологічна дія лікарських рослин визначається вмістом у них біологічно активних речовин: флавоноїдів, фосфоліпідів, стероїдних сапонінів, гормоноподібних речовин, амінокислот, вітамінів, мікроелементів, ферментів та ін. Комплексне використання фармакологічних ефектів лікарських рослин та їхніх основних структурних компонентів може бути основою первинної профілактики та лікування атеросклерозу [5].

Так, дослідження останніх років значно збагатили уявлення про біологічні ефекти ресвератролу, що міститься в корінні гірчака гострокінцевого японського (*Polygonum cuspidatum*), шкірці винограду, чорниці та інших фруктів, какао та горіхах [6–8]. Одним з найвідоміших ефектів ресвератролу, напевно, є зниження ризику розвитку ССЗ. Неодноразово в дослідженнях відмічали модулюючий ефект ресвератролу на розвиток атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця та серцевої недостатності [9, 10]. У різних експериментальних моделях ресвератрол знижував артеріальний тиск [10, 11]. Крім цього, позитивний вплив ресвератролу

на серцево-судинну систему зумовлений поліпшенням ендотеліальної функції: збільшує синтез оксиду азоту та пригнічує його деградацію [10, 11]. У сукупності ці ефекти перешкоджають розвитку атеросклерозу й сприяють поліпшенню судинного кровотоку [12, 13].

Серед плодово-ягідних культур України горобина звичайна (*Sorbus aucuparia*) займає одне з перших місць за вмістом Р-активних речовин, які представлені флавонолами (кверцетин, ізокверцитрин, кверцитрин, рутин, гіперозид, мератин), антоціанами, лейкоантоціанами та катехінами [14, 15]. Дані літератури щодо хімічного складу плодів горобини вказують на протизапальну, в'язучу, сечогінну, жовчогінну, потогінну, репаративну, кровоспинну та капілярозміцнюючу дію [16]. Щодо ефективності при метаболічному синдромі, дисліпідемії або атеросклерозі відомостей про використання плодів горобини звичайної в сучасній науковій літературі немає, хоча використання в нетрадиційній медицині з метою зниження рівня ХС у крові, підвищення резистентності кровоносних судин є доволі поширеним [17]. Більше даних щодо корекції дисліпідемії існує відносно іншого представника родини *Rosaceae* – аронії чорноплідної (*Aronia melanocarpa*) [18, 19].

Мета дослідження – оцінити гіполіпідемічну активність екстракту плодів горобини звичайної та ресвератролу в щурів з експериментальним еквівалентом МС.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 24 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 170–220 г (вік 9–10 тижнів), яких утримували в стандартних умовах віварію (температура повітря: $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, світлий/темний цикл: 12/12 год). Моделювали МС шляхом використання високофруктозної дієти впродовж 8 тижнів [20, 21]. У ході дослідження тварин було розподілено на 4 групи: I – інтактні (пасивний контроль, питна вода), $n = 6$; II – тварини з експериментальним МС (активний контроль), $n = 6$; III – МС + екстракт горобини, $n = 6$; IV – МС + ресвератрол, $n = 6$. Дослідний екстракт плодів горобини («Віларус», Ладижин, Україна)

вводили з розрахунку 1,5 мл/кг маси тіла щурів 1 раз на 1 добу внутрішньошлунково впродовж 7 та 8 тижнів експерименту на фоні високофруктозної дієти, ресвератрол («Евелор, Medochemie Ltd.» – у дозі 20 мг/кг [22, 23] у тому самому режимі. Для отримання однорідної суспензії препарату ресвератролу використовували 1 % розчин крохмалю.

На 57 добу дослідження тварин виводили з експерименту шляхом декапітації. Ліпідний профіль (загальний холестерин (ЗХС), ЛПНЩ, ЛПВЩ, ТГ) у сироватці крові щурів оцінювали за допомогою біохімічного аналізатора HTI BioChem SA (США) та стандартних тест-наборів (High Technology Inc, США та «Філісіт-Діагностика», Україна). Окрім цього, для більш повної оцінки атерогенних змін за умов експериментального МС розраховували наступні співвідношення: ТГ/ЗХС-ЛПВЩ, ТГ/ЗХС, ЗХС-ЛПВЩ/ЗХС-ЛПНЩ та ЗХС/ЗХС-ЛПВЩ, зміни яких свідчать про ризик розвитку та прогресування атеросклерозу [2, 24–28].

Дослідження проведені з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, які використовуються в експериментах та інших наукових цілях від 18 березня 1986 року.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми StatPlus, версія 2006. Враховуючи малий об'єм вибірок, застосовували методи непараметричної статистики – при описанні кількісних ознак дані були представлені у вигляді медіани та квартилей (Me (Q1; Q3)). Для порівняння статистичних відмінностей між групами використовували U – критерій Манна-Уїтні. Відмінності вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. У ході дослідження встановлено, що на фоні перебігу метаболічного синдрому, викликаного тривалим вживанням фруктози, у щурів групи активного контролю розвивалися явища гіперхолестеринемії, які характеризувалися підвищенням у крові рівнів ЗХС (+11,7 % ($p < 0,05$), ЛПНЩ (+32,1 % ($p < 0,05$)) та ТГ (+71,3 % ($p < 0,01$)) на фоні зниження ЛПВЩ (–10,2 % ($p < 0,05$)), що

узгоджується з низкою експериментальних даних [3, 24, 29]. Рівні основних ліпідних показників крові на фоні МС та за умов корекції обраними препаратами наведено в таблиці.

Враховуючи достовірні відмінності між групами активного та пасивного контролю, можна припустити наявність у тварин, що перебували на високофруктозній дієті протягом усього експерименту, атерогенної дисліпідемії, яка може розглядатися як фактор ризику розвитку серцево-судинних ускладнень при метаболічному синдромі.

Як видно на рисунку, перебіг МС сприяв достовірному зростанню наступних індексів: ТГ/ХС-ЛПВЩ (+ 89,6 % ($p < 0,01$), ТГ/ЗХС (+ 52,6 % ($p < 0,01$), ЗХС/ХС-ЛПВЩ (+24,2 % ($p < 0,05$) та зниженню співвідношення ХС-ЛПВЩ/ХС-ЛПНЩ (-37,1 % ($p < 0,01$) порівняно з групою інтактних тварин.

За даними літератури, резистентність до інсуліну є одним з основних маркерів МС [1, 3], пов'язаних з атерогенними індексами, які вказують на збільшення ризику розвитку серцево-судинних ускладнень. Відомо, що збільшення

співвідношення ТГ/ХС-ЛПВЩ є маркером, що дозволяє виявити інсулінорезистентність (ІР) у пацієнтів з надмірною вагою [25, 26]. Отримані нами дані свідчать, що на тлі вживання фруктози даний коефіцієнт підвищувався за рахунок статистично значимого зростання в сироватці крові рівня ТГ ($p < 0,01$), а знижувався за рахунок підвищення вмісту ліпопротеїдів високої щільності ($p < 0,05$). Отже, ці дані можуть свідчити про прояви ІР у групи щурів активного контролю [27].

Епідеміологічні дослідження показали, що відношення ЗХС/ХС-ЛПВЩ та ХС-ЛПВЩ/ХС-ЛПНЩ є кращими провісниками атеросклерозу і ССЗ, ніж будь-який інший одиночний ліпідний маркер [25–27].

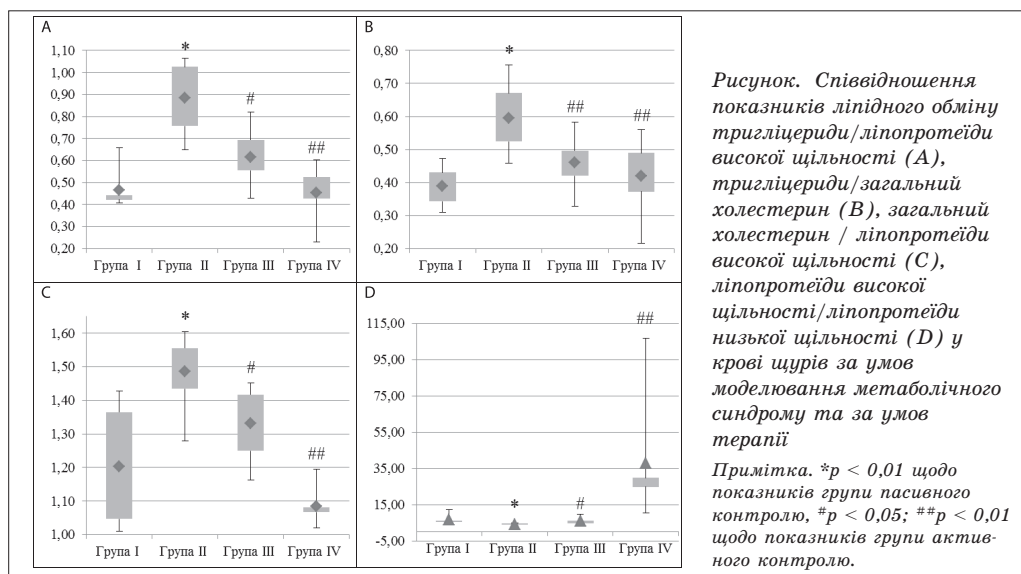
Підвищення індексу атерогенності ЗХС/ХС-ЛПВЩ може вказувати на порушення інсулінозалежної утилізації глюкози, більш високий кров'яний тиск, підвищений рівень ТГ, гіперінсулінемію. Зниження ж індексу ХС-ЛПВЩ/ХС-ЛПНЩ у групі активного контролю можливо відображає переважання процесів надходження ХС до судинної стінки над його виведенням,

Таблиця

Основні показники вмісту ліпідів у крові щурів на фоні експериментального метаболічного синдрому та за умов терапії (n = 6)

№ п/п	Група тварин		Загальний холестерин, ммоль/л	Ліпопротеїди низької щільності, ммоль/л	Ліпопротеїди високої щільності, ммоль/л	Тригліцериди, ммоль/л
1	Інтактні тварини (пасивний контроль)	Me	1,37	0,191	1,09	0,49
		Q1	1,21	0,183	1,06	0,46
		Q3	1,45	0,211	1,16	0,52
2	Метаболічний синдром (активний контроль)	Me	1,52*	0,239*	0,99*	0,91**
		Q1	1,47	0,220	0,98	0,76
		Q3	1,56	0,256	1,02	1,00
3	Метаболічний синдром + екстракт плодів горобини, 1,5 мл/кг	Me	1,54*	0,190	1,097#	0,66
		Q1	1,47	0,183	1,082	0,59
		Q3	1,56	0,231	1,153	0,77
4	Метаболічний синдром + ресвератрол, 20 мг/кг	Me	1,66	0,057#	1,55#	0,70
		Q1	1,54	0,048	1,47	0,67
		Q3	1,76	0,061	1,63	0,73

Примітка. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ щодо показників групи пасивного контролю (інтактні тварини), # $p < 0,01$ щодо групи активного контролю (тварини з еквівалентом МС).



що може використовуватись для прогнозування атеросклеротичного ураження судин. Кожен з цих факторів є маркером МС і водночас незалежним фактором ризику ССЗ [1, 24].

Водночас зростання показника співвідношення ТГ/ЗХС у групі тварин активного контролю може бути пов'язане з прямим впливом ТГ на структуру, функцію та метаболізм ЛПНЩ та ЛПВЩ [24].

Уведення екстракту плодів горобини (1,5 мл/кг) та ресвератролу (20 мг/кг) упродовж 2 тижнів чинило позитивний вплив як на показники ліпідного профілю (таблиця), так і на індекси атерогенності (рисунок). Так, у групі щурів з експериментальним МС, яким упродовж 14 діб вводили ресвератрол, відмічалось зниження індексу ТГ/ХС-ЛПВЩ на 48,6 % ($p < 0,01$) щодо групи тварин з експериментальним МС, які не піддавалися фармакотерапії, а в групі тварин, яким вводили екстракт горобини – на 30,5 % ($p < 0,05$). Індекс ТГ/ЗХС зменшувався в групі, яка отримувала ресвератрол на 29,4 % ($p < 0,01$), а значення співвідношення ХС-ЛПВЩ/ХС-ЛПНЩ зросло в 8,0 разу ($p < 0,001$) порівняно з групою активного контролю. Уведення екстракту плодів горобини супроводжувалося зниженням співвідношення ТГ/ЗХС на 22,7 % ($p < 0,01$), а співвідношення ХС-ЛПВЩ/ХС-ЛПНЩ підвищилось на 44,8 % ($p < 0,01$) щодо

групи тварин з МС. Розрахунок індексу ЗХС/ХС-ЛПВЩ показав достовірне зниження даного коефіцієнта на 10,4 % ($p < 0,05$) щодо значень групи активного контролю за умов введення екстракту плодів горобини та на 27,5 % ($p < 0,01$) за умов введення ресвератролу (рисунок).

Отже, отримані результати вказують на деякі відмінності в механізмі дії обраних нами природних засобів. Водночас, більшою мірою нормалізації атерогенних індексів в умовах відтворення моделі МС сприяло введення ресвератролу. Необхідно також підкреслити позитивний ефект екстракту горобини на основні показники ліпідограми.

Цілком ймовірно, що визначені протекторні властивості екстракту плодів горобини звичайної (*Fructus Sorbi aucupariae*) можуть бути зумовлені наявністю в них біологічно-активних речовин, а саме, аскорбінової кислоти, рибофлавіну, токоферолу, каротиноїдів, фенольних сполук (фенолкарбонова кислота, флавоноїди, що включають антоціаніди, кверцетин, ізокверцетин, гіперон, рутин, катехін, епікатехін, хлорогенова кислота), полісахаридів (пектини), органічних кислот, макро- та мікроелементів, для яких характерна антиоксидантна дія [36]. Оцінка коефіцієнтів атерогенності в групі тварин, яким вводили екстракт горобини, дозволила припустити наявність у нього антиатеросклеротичної дії.

Водночас активність ресвератролу може бути забезпечена комплексом механізмів: нормалізацією обміну ХС, поліпшенням вуглеводного обміну в клітинах, стабілізацією холестеринових відкладень, призупиненням запального процесу на стінках судин та капілярів [30]. Відомо, що дана сполука є природним фенолом і має здатність пригнічувати синтез жирних кислот, виявляє суттєву антиокиснювальну активність, що дозволяє попереджувати розвиток атеросклерозу та гальмувати вже наявний процес [13–15]. Отримані результати погоджуються з даними літератури, згідно з якими ресвератрол сприяє зниженню рівнів атерогенних ліпідів у крові та печінці, гальмує ліпогенез, у

тому числі за рахунок пригнічення конверсії глюкози в жири, знижує переокиснення ліпідів, пригнічує розвиток атеросклерозу за умов стрептозоточин-індукованого діабету [30].

Висновок

На моделі метаболічного синдрому в щурів показано, що ресвератрол (20 мг/кг) та екстракт плодів горобини звичайної (1,5 мл/кг) за умов внутрішньоплункового застосування протягом 2 тижнів зменшують прояви дисліпідемії та сприяють стабілізації індексів атерогенезу. За впливом на рівень ліпідів крові та їхні співвідношення ресвератрол перевершує ефект екстракту горобини звичайної.

1. Амбросова Т. М. Терапевтическая коррекция атерогенной дислипидемии при метаболическом синдроме / Т. М. Амбросова // Международный медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 50–55.
2. Маковеева Е. А. Индекс атерогенности как интегральный показатель поражения органа мишени (сердца) при гипертонической болезни / Е. А. Маковеева // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. – 2013. – № 1 (1). – Режим доступа до ресурсу: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/322>.
3. High density lipoprotein and metabolic disease: Potential benefits of restoring its functional properties. / T. Klancic, L. Woodward, S. M. Hofmann, E. A. Fisher // Mol. Metab. – 2016. – V. 5 (5). – P. 321–327.
4. Anti-Atherosclerotic therapy based on botanicals / A. N. Orekhov, I. A. Sobenin, N. V. Korneev [et al.]. // Recent Par Cardiovasc Drug Discov. – 2013. – V. 8 (1). – P. 56–66.
5. Гриценко О. М. Проблеми і перспективи вивчення і використання рослинної сировини і препаратів як засіб наукової та народної медицини / О. М. Гриценко, С. В. Сур, В. І. Тодорова // 36. наук. праць співробітн. КМАПО ім. П. Л. Шупика. – Вип. 13, кн. 1. – Київ, 2004. – С. 501–505.
6. Antidiabetic effects of resveratrol: the way forward in its clinical utility / O. R. Oyenihi, A. B. Oyenihi, A. A. Adeyanju, O. O. Oquntibeju // J. Diabetes Res. 2016. – V. 2016. – P. 1–14.
7. The protective role of plant biophenols in mechanisms of Alzheimer's disease / S. H. Omar, C. J. Scott, A. S. Hamlin, H. K. Obied // J. Nutr Biochem. – 2017. – V. 47. – P. 1–20.
8. Implications of resveratrol on glucose uptake and metabolism / D. Leon, E. Uribe, A. Zambrano, M. Salas // Molecules. – 2017. – V. 22 (3). – P. 1–11.
9. Lopez M. S. Resveratrol neuroprotection in stroke and traumatic CNS injury / M. S. Lopez, R. J. Dempsey, R. Venuqanti // Neurochem Int. – 2015. – V. 89. – P. 75–82.
10. Bonnefont-Rousselot D. Resveratrol and cardiovascular diseases / D. Bonnefont-Rousselot // Nutrients. – 2016. – V. 8 (250). – P. 1–24.
11. Resveratrol prevents hypertension and cardiac hypertrophy in hypertensive rats and mice / V. W. Dolinsky, S. Chakrabarti, T. J. Pereira [et al.] // Biochem Biophys Acta. – 2013. – V. 1832 (10). – P. 1723–1733.
12. Cholesterol-lowering effects and mechanisms in view of bile acid pathway of resveratrol and resveratrol glucuronides / D. Shao, Y. Wang, Q. Huang [et al.] // J. Food Sci. – 2016. – V. 81 (11). – P. 1–8.
13. Effects of Natural Products on Fructose-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) / Q. Chen, T. Wang, J. Li [et al.] // Nutrients. – 2017. – V. 9 (96). – P. 1–12.
14. Химическое изучение биологически активных полифенолов некоторых сортов рябины обыкновенной – *Sorbus aucuparia* / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, В. Н. Сорокопудов [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2010. – № 22 (93), Т. 12–2. – С. 123–128.
15. Зузук Б. М. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) (Частина I) / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик // Провизор. – 2008. – № 15. – Режим доступа до ресурсу: http://www.provisor.com.ua/archive/2008/N15/susuk_158.php?part_code=68&art_code=6758
16. Зузук Б. М. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) (Частина II) / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик // Провизор. – 2008. – № 16. – Режим доступа до ресурсу: http://www.provisor.com.ua/archive/2008/N16/susuk_168.php?part_code=68&art_code=6780
17. Лекарственные растения в народной медицине // Большая энциклопедия. – Москва : Издательский дом «АНС», Астрель, АСТ, 2007. – 960 с.

18. Chokeberry attenuates the expression of genes related to de novo lipogenesis in the hepatocytes of mice with nonalcoholic fatty liver disease / H. Park, Y. Liu, H. S. Kim, J. H. Shin // *Nutr Res.* – 2016. – V. 36 (1). – P. 57–64.
19. Aronia melanocarpa extract ameliorates hepatic lipid metabolism through PPAR γ 2 Downregulation / C. H. Park, J. H. Kim, E. B. Lee [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – P. 1 22.
20. High-fructose diet leads to visceral adiposity and hypothalamic leptin resistance in male rats do glucocorticoids play a role? / B. N. Bursac, A. D. Vasiljević, N. M. Nestorović [et al.] // *J. Nutr Biochem.* – 2014. – V. 25 (4). – P. 446–455.
21. The impact of different fructose loads on insulin sensitivity, inflammation, and PSA-NCAM-mediated plasticity in the hippocampus of fructose-fed male rats / A. Djordjevic, B. Bursac, N. Veličković [et al.] // *Nutr Neurosci.* – 2015. – V. 18(2). – P. 66–75.
22. Neuroprotective effects of resveratrol in Alzheimer disease pathology / S. D. Rege, T. Geetha, G. D. Griffin [et al.] // *Front Aging Neurosci.* – 2014. – V. 11 (6). – P. 1–12.
23. Resveratrol reverses the restraint stress-induced cognitive dysfunction involving brain antioxidant system in rats / R. Ashwin, M. Sampath, P. Latha [et al.] // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* – 2014. – V. 6 (1). – P. 768–772.
24. Взаємозв'язок між окремими ліпідними співвідношеннями і виявами синдрому інсуліно-резистентності / В. А. Чернишов, Т. О. Ченчик, С. В. Белозьорова, О. В. Фісенко // *Український терапевтичний журнал.* – 2007. – № 3. – С. 15–24.
25. LDL-C/HDL-C Ratio Predicts Carotid Intima-Media Thickness Progression Better Than HDL-C or LDL-C Alone / M. Enomoto, H. Adachi, Y. Hirai [et al.] // *J. Lipids.* – 2011. – P. 1–6.
26. Relationship between TG/HDL-C ratio and metabolic syndrome risk factors with chronic kidney disease in healthy adult population / C. I. Ho, J. Y. Chen, S. Y. Chen [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2015. – V. 34 (5). – P. 874–880.
27. Visceral adiposity index and triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio in hypogonadism / C. Haymana, A. Sonmez, A. Aydoqdu [et al.] // *Arch Endocrinol Metab.* – 2017. – P. 1 6.
28. Aladedunye F. Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia* (L.) and *Malus baccata* (L.) berries: antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage / F. Aladedunye, B. Matthäus // *Food Chem.* – 2014. – V. 2014. – P. 273–281.
29. Метельская В. А. Современные основы диагностики и коррекции атерогенных дислипидопро-теидемий / В. А. Метельская // *Лечащий врач: медицинский научно-практический журнал.* – Режим доступу до ресурсу: <http://lvrach.ru/2002/07-08/4529584>
30. Shahi M. M. Comparison of effect of resveratrol and vanadium on diabetes related dyslipidemia and hyperglycemia in streptozotocin induced diabetic rats / M. M. Shahi, F. Haidari, M. R. Shiri // *Adv. Pharm. Bull.* – 2011. – V. 1 (2). – P. 81–86.

Н. О. Мархонь, В. І. Жилук, А. Е. Левих, В. Й. Мамчур

Особенности змін ліпідограми крові щурів за метаболічного синдрому та експериментальної фармакотерапії екстрактом плодів горобини звичайної та ресвератролом

Мета дослідження – оцінити гіполіпідемічну активність екстракту плодів горобини звичайної та ресвератролу в щурів з експериментальним еквівалентом метаболічного синдрому.

Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар, метаболічний синдром (МС) у яких моделювали утриманням тварин на високофруктозній дієті впродовж 56 діб. Дослідні засоби ресвератролу (20 мг/кг) та екстракт плодів горобини звичайної (1,5 мл/кг) вводили 1 раз на 1 добу внутрішньошлунково протягом 2 останніх тижнів експерименту. У сироватці крові визначали ліпідний профіль (ЗХС, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ТГ) та розраховували наступні індекси атерогенності (ТГ/ЛПВЩ, ТГ/ЗХС, ЛПВЩ/ЛПНЩ, ЗХС/ЛПВЩ).

Зміни в ліпідному спектрі крові щурів з метаболічним синдромом характеризувалися підвищенням рівнів ТГ ($p < 0,01$) та ЗХС ($p < 0,05$) за рахунок ЛПНЩ ($p < 0,05$), зниженням ЛПВЩ ($p < 0,05$). Відмічено збільшення наступних співвідношень: ТГ/ЛПВЩ на 89,6 % ($p < 0,01$), ТГ/ЗХС на 52,6 % ($p < 0,01$), ЗХС/ЛПВЩ на 24,2 % ($p < 0,05$) та зниження відношення ЛПВЩ/ЛПНЩ на 37,1 %, ($p < 0,01$).

Застосування екстракту горобини та ресвератролу призводило до поліпшення показників ліпідного профілю та до суттєвих змін індексів атерогенності. Так, відмічалось зниження індексів ТГ/ЛПВЩ на 30,5 % ($p < 0,05$) та 48,6 % ($p < 0,01$), ТГ/ЗХС на 22,7 % ($p < 0,01$) та 29,4 % ($p < 0,01$), ЗХС/ЛПВЩ на 10,4 % ($p < 0,05$) та 27,5 % ($p < 0,01$) відповідно щодо показників тварин з метаболічним синдромом, а співвідношення ЛПВЩ/ЛПНЩ достовірно зростало на 44,8 % ($p < 0,05$) за умов введення екстракту плодів горобини та в 8,0 разу ($p < 0,001$) при введенні ресвератролу.

Таким чином, екстракт плодів горобини звичайної та ресвератролу виразно зменшують прояви дисліпідемії, що виникає внаслідок перебігу МС, при цьому більш виражений позитивний ефект має ресвератрол.

Ключові слова: дисліпидопро-теїдемія, атеросклероз, метаболічний синдром, індекси атерогенезу, екстракт плодів горобини звичайної, ресвератрол

Н. А. Мархонь, В. И. Жилюк, А. Е. Левых, В. И. Мамчур

Особенности изменений липидограммы крови крыс при метаболическом синдроме и фармакотерапии экстрактом плодов рябины обыкновенной и ресвератролом

Цель исследования – оценить гипополипдемическую активность экстракта плодов рябины обыкновенной и ресвератрола у крыс с экспериментальным эквивалентом метаболического синдрома.

Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Вистар, метаболический синдром (МС) у которых моделировали содержанием животных на высокофруктозной диете в течение 56 суток. Исследуемые средства ресвератрол (20 мг/кг) и экстракт плодов рябины (1,5 мл/кг) вводили 1 раз в 1 сутки внутривентрикулярно в течение 2 последних недель эксперимента. В сыворотке крови определяли липидный профиль (ОХС, ЛПНП, ЛПВП, ТГ) и рассчитывали следующие индексы атерогенности (ТГ/ЛПВП, ТГ/ОХС, ЛПВП/ЛПНП, ОХС/ЛПВП).

Изменения в липидном спектре крови крыс с МС характеризовались повышением уровней ТГ ($p < 0,01$) и ОХС ($p < 0,05$) за счет ЛПНП ($p < 0,05$), снижением ЛПВП ($p < 0,05$). Отмечено увеличение следующих соотношений: ТГ/ЛПВП на 89,6% ($p < 0,01$), ТГ/ОХС на 52,6% ($p < 0,01$), ОХС/ЛПВП на 24,2% ($p < 0,05$) и снижение соотношения ЛПВП/ЛПНП на 37,1% ($p < 0,01$).

Применение экстракта плодов рябины и ресвератрола приводило к улучшению показателей липидного профиля и существенным изменениям индексов атерогенности. Так, отмечалось снижение индексов ТГ/ЛПВП на 30,5 % ($p < 0,05$) и 48,6% ($p < 0,01$), ТГ/ОХС на 22,7 % ($p < 0,01$) и 29,4% ($p < 0,01$), ОХС/ЛПВП на 10,4 % ($p < 0,05$) и 27,0% ($p < 0,01$) соответственно в сравнении с показателями животных с МС, а соотношение ЛПВП/ЛПНП достоверно возрастало на 44,8 % ($p < 0,05$) в условиях введения экстракта плодов рябины и в 8,0 раз ($p < 0,001$) по сравнению с показателями при введении ресвератрола.

Таким образом, экстракт плодов рябины обыкновенной и ресвератрол выраженно уменьшают проявления дислипидемии, возникающей вследствие МС, при этом более выраженный положительный эффект ресвератрола может быть опосредован снижением под его влиянием уровня ЛПНП.

Ключевые слова: дислипидемия, атеросклероз, метаболический синдром, индексы атерогенности, экстракт плодов рябины обыкновенной, ресвератрол

N. O. Markhon, V. I. Zhylyuk, A. E. Lievykh, V. I. Mamchur

Features of lipidogram changes in rats blood under metabolic syndrome and pharmacotherapy by extract of rowanberries and resveratrol

The aim of the study was to evaluate the hypolipidemic activity of extract of fruits of European rowan and resveratrol in rats with experimentally reproduced metabolic syndrome.

The study was conducted in white male Wistar rats with metabolic syndrome (MS) that was modeled by keeping animals on high-fructose diet during 56 days. Test agents resveratrol (20 mg/kg) and extract of rowanberries (1,5 ml/kg) were administered 1 time per day intragastrically within the last 2 weeks of the experiment. The lipid profile in blood serum (total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides) was determined and the following atherogenic indices were calculated (TG/HDL-C, TG/TC, HDL/LDL-C, TC/HDL-C).

Changes in blood lipid profile in rats with MS were characterized by increase the levels of triglyceride ($p < 0,01$) and total cholesterol ($p < 0,05$) due to LDL ($p < 0,05$), decrease in HDL-C ($p < 0,05$). It was noted that dyslipidemia was accompanied by increase of the following ratios: TG/HDL-C by 89,6 % ($p < 0,01$), TG/TC by 52,6 % ($p < 0,01$), TC/HDL-C by 24,2 % ($p < 0,05$) and decrease of HDL-C/LDL-C ratio by 37,1 % ($p < 0,01$).

At the same time, administration of extract of rowanberries and resveratrol resulted in improvement of lipid profile that were represented by significant changes in atherogenic indices. There were a decrease of TG/HDL-C by 30,5 % ($p < 0,05$) and by 48,6 % ($p < 0,01$), TG/TC by 22,7 % ($p < 0,01$) and by 29,4 % ($p < 0,01$), TC/HDL-C by 10,4 % ($p < 0,05$) and by 27,5 % ($p < 0,01$) as compared to parameters under MS control, and HDL-C/LDL-C ratios were significantly increased by 44,8 % ($p < 0,05$) during administration of the extract of rowanberries and by 8,0 times ($p < 0,001$) after resveratrol.

Therefore, extract of rowanberries and resveratrol significantly reduced manifestations of dyslipidemia arising in consequence of MS, more expressed positive effect has resveratrol.

Key words: dyslipidemia, atherosclerosis, metabolic syndrome, atherogenic indices, resveratrol, extract of rowanberries

Надійшла: 8 листопада 2016 р.

Контактна особа: Мархонь Наталя Олександрівна, викладач, кафедра медичної біології, фармакогнозії та ботаніки, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», б. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпро, 49044, Тел.: + 38 0 50 858 75 67.
Електронна пошта: tanana@i.ua

О. С. Хромов, Н. С. Гула, Н. В. Добреля, А. І. Соловійов

Вплив цукрового діабету на розвиток гіпоксичної легеневої вазоконстрикції

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

Ключові слова: цукровий діабет, внутрішньолегеневі артерії, гіпоксія

Системна судинна дисфункція є ключовим механізмом розвитку ускладнень при цукровому діабеті (ЦД) I та II типу. У процес залучаються судини мікро- і макроциркуляційної мережі [1, 2]. Зміни шляхів метаболізму глюкози за умов ЦД призводять до обмеження компенсаторних можливостей судин до поточних потреб тканин і органів [3–6]. До розвитку розладів судинної системи залучені декілька патологічних ефектів гіперглікемії, що діють як на клітини ендотелію, так і клітини гладенької мускулатури (ГМК) судин [3, 7–9]. Незважаючи на той факт, що в легеневої судинної мережі та системному кровообігу одні й ті самі рівні глюкози й інсуліну, пошкоджуючі наслідки діабету в легенях є менш клінічно очевидними [10].

Гіпоксія є одним з основних чинників розвитку патологічних ускладнень, у тому числі за умов ЦД, хоча й у нормі відіграє важливу роль у фізіологічних реакціях організму [11]. У відповідь на гіпоксію в артеріях малого кола кровообігу виникає гіпоксична легенева вазоконстрикція (ГЛВ), яка за фізіологічних умов є показником здатності артерій до регуляції легеневого кровообігу для підтримки нормального вентиляційно-перфузійного співвідношення. Зміни цього механізму, у кінцевому рахунку, можуть призводити до ускладнень у роботі серцево-судинної системи [12]. Вважають, що малі внутрішньолегеневі артерії (ВЛА) є провідними в регуляції легеневого кровообігу, проте, вплив ЦД на скоротливу активність ВЛА залишається не достатньо з'ясованим. З огляду на дані літератури щодо негативного впливу спільної дії гіпоксії та високого вмісту глюкози на судини великого

кола кровообігу, можна зробити припущення про модулюючий вплив гіперглікемії на реакції судин малого кола кровообігу при ЦД.

Мета дослідження – оцінка скоротливої здатності ВЛА за дії гіпоксії в щурів з ЦД. У даному дослідженні гостра гіпоксія виступає маркером визначення стану легеневої циркуляції за умов підвищеної концентрації глюкози та ЦД.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на 40 дорослих білих щурах-самцях лінії Wistar масою (225 ± 12) г, яких утримували на стандартному раціоні віварію, що складається з сухих брикетованих комбікормів (віварій ПП «Біомодельсервіс»). Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [13] та Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [14]. Тварин виводили з експерименту шляхом введення летальної дози уретану (400 мг на 100 г маси тіла; в/в).

Усі тварини методом випадкової вибірки були розподілені на дві групи по 20 тварин у кожній. Перша група була контрольною, а у тварин другої групи моделювали цукровий діабет.

Моделювання цукрового діабету в щурів. Розвиток ЦД викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням розчиненого в цитратному буфері стрептозотоцину (СТЗ) у дозі 65 мг/кг. Щурам контрольної групи внутрішньоочеревинно вводили відповідний об'єм цитратного буферу.

Гострі експерименти виконували через 2 міс після введення тваринам СТЗ. Слід зазначити, що протягом цього терміну в контрольній групі загинуло 1, а в дослідній – 10 тварин.

Операційна підготовка. Операційну підготовку проводили на тваринах під внутрішньоочеревинним хлоралозо-уретановим наркозом (1:10; з розрахунку 40 мг уретану на 100 г маси тіла). Після трахеостомії ліву яремну вену та ліву загальну сонну артерію катетеризували тефлоновими катетерами та вводили гепарин з розрахунку 50 ОД на 100 г маси тіла. Проводили ретроградну катетеризацію порожнини правого шлуночка серця через праву яремну вену.

Реєстрація та розрахунок основних показників кардіо- та гемодинаміки. Тиск крові у правому шлуночку (T_{III}) та тиск крові в лівій загальній сонній артерії вимірювали датчиками тиску ISOTEC (HSE, Німеччина) з наступним підсиленням і диференціюванням отриманих сигналів за допомогою підсилювача DBA, тип 660 (HSE, Німеччина) і пристрою DIF тип 664 (HSE, Німеччина). Оцифрування даних здійснювали аналогово-цифровими конверторами Power Lab 4/30 (ADInstruments; Австралія). Обробку сигналів, що одержували, проводили за допомогою програм «Chart 5» (ADInstruments, Австралія).

Підготовка тонкого зрізу легень. Під наркозом виконували торакотомію з наступною екстирпацією серця та легень *en bloc*. Серце та легені занурювали в розчин Хенкса (1,26 ммоль/л $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 5,33 ммоль/л KCl ; 0,44 ммоль/л KH_2PO_4 ; 0,8 ммоль/л $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 138 ммоль/л NaCl ; 4,2 ммоль/л NaHCO_3 ; 0,3 ммоль/л Na_2HPO_4 ; 5,6 ммоль/л глюкози), після цього відділяли одну з долей легень, і за допомогою двох лез, розташованих паралельно на відстані 200 мкм, робили зріз долі перпендикулярно дистальній частині дольової артерії. Отриманий зріз переносили до термостабілізованої камери з температурою розчину Хенкса 37 °C, та притискали за допомогою двох нейлонових ниток, закріплених на платиновому напівкільці. Камеру розміщували на предметному столику інвертованого мікроскопа Біолам П-1 («Ломо», РФ). Дослідження проводили при 100-разовому збільшенні зображення. На зрізі знаходили просвіт наявного сегмента дольової артерії (діаметром 100–250 мкм). Стан судин-

ної стінки після фіксації зрізу в камері стабілізували протягом 30 хв.

Під час експерименту за допомогою цифрової камери з роздільною здатністю 5 Мп («eTrek», КНР) отримували знімки з частотою 5 хв⁻¹.

Здатність препаратів внутрішньолегеневих артерій (ВЛА) до скорочення визначали за допомогою 5-хв реакції на розчин Хенкса, що містив 40 ммоль KCl (рис. 1). Величину цієї реакції в подальшому використовували для нормування наступних реакцій відповідного препарату. Зміни тонуусу сегмента ВЛА розраховували у відсотках від амплітуди максимального скорочення у відповідь на деполяризуючий розчин (S_K).

Зміну розчинів у камері здійснювали за допомогою перистальтичного насоса IPS («Ismatec», Швейцарія) зі швидкістю 3,5 мл/хв.

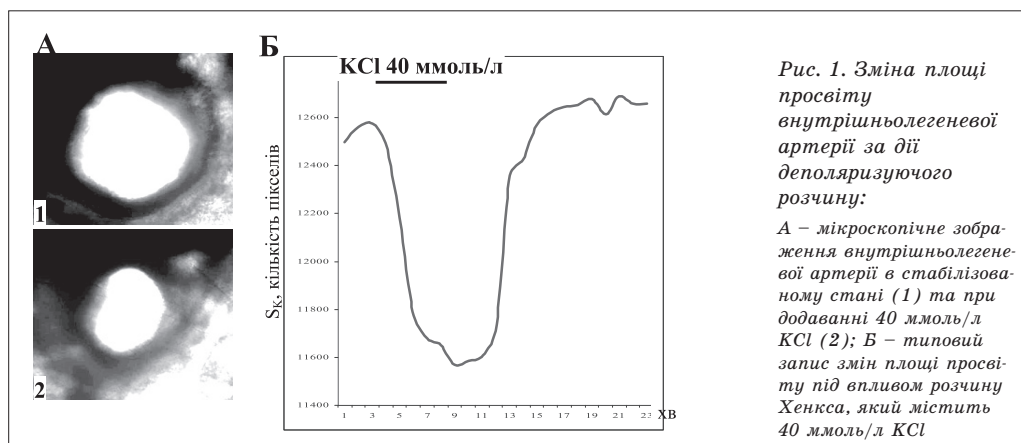
Розрахунок змін площі просвіту ВЛА. Отримані знімки обробляли в реальному часі програмою ImageJ (National Institutes of Health, США) за допомогою алгоритму написаного на мові ImageJ Macro Language: одразу після отримання зображення переводили в 8-бітний формат (шкала сірого) та через алгоритм детектора меж Канні-Деріха виявляли межі просвіту ВЛА, після чого розраховували площу просвіту ВЛА у пікселях. На основі отриманих величин будували графік, що оновлювався після кожного знімка [15].

Модельовання гіпоксії

In vivo. Здійснювали штучну вентиляцію легень за допомогою апарата Ugo Basile 7025 (хвилинний об'єм дихання ≈ 140 мл/хв) газовою сумішшю, що містила 10 % – O_2 та 90 % – N_2 . Тривалість гіпоксії – 30 хв.

In vitro. Проводили перфузію розчином Хенкса, через який попередньо протягом 15 хв пропускали газову суміш, що містила 10 % – O_2 90 % – N_2 . Тривалість гіпоксії – 30 хв.

Використані реактиви та розчини. У ході дослідження були використані: СТЗ (Sigma, США), альфа-хлоралоза (Sigma, США); етилкарбамат (уретан, Sigma, США); гепарин (ТОВ «Фарма Лайф», Україна); солі для приготування розчину Хенкса та цитратного буферу (Sigma, США).



Аналіз та статистична обробка отриманих даних. Фактичний матеріал було оброблено методами варіаційної статистики. Проводили тест на нормальність розподілу Шапіро-Уїлка. Дані представлені в такий спосіб: при нормальному розподілі у вигляді середнього $\pm$ похибки середнього ($M \pm m$); в інших випадках – медіани, першого та третього квартилей Med (Q1; Q3). Порівняння величин проводили за допомогою U-тесту Манна-Уїтні. Для порівняння залежних вибірок використовували парний критерій Вілкоксона. Апостеріорне порівняння проводили за допомогою критерію Ньюмана-Кейлса. Відмінності вважалися статистично достовірними, якщо величина p була меншою ніж 0,05.

Результати та їх обговорення. Наслідки введення СТЗ стосовно вмісту глюкози в крові, маси тіла й артеріального

тиску наведено в таблиці 1. Через 60 днів у тварин з діабетом рівень глюкози в крові був значно збільшений, а маса тіла була нижчою, ніж у контрольних тварин. Спостерігалось достовірне збільшення середнього артеріального тиску.

Слід зазначити різницю в рівні тиску в порожнині правого шлуночка – його абсолютна величина була майже вдвічі меншою в тварин зі СТЗ-індукованим діабетом (рис. 2).

Штучна вентиляція легень гіпоксичною газовою сумішшю призводила до значного зниження тиску крові у великому колі кровообігу як у тварин контрольної групи, так і у щурів з експериментальним цукровим діабетом (табл. 2).

Щодо реакції судин малого кола кровообігу на гостру гіпоксію, то вентиляція легень гіпоксичною газовою сумішшю супроводжувалася збільшен-

Таблиця 1

Загальні ефекти через 60 днів після введення стрептозотоцину ($M \pm m$)

Показник	Початкова величина	Контроль	Діабет
Маса тіла, г	187 $\pm$ 9 (n = 40)	315 $\pm$ 9 (n = 19) *p = 0	217 $\pm$ 17 (n = 10) *p = 0,138609 #p = 0,000007
Уміст глюкози, ммоль/л	6,9 $\pm$ 0,2 (n = 40)	6,8 $\pm$ 0,3 (n = 19) *p = 0,779954	26,2 $\pm$ 0,4 (n = 10) *p = 0 #p = 0
Середній артеріальний тиск, мм рт. ст.	112,7 $\pm$ 1,6 (n = 40)	113,3 $\pm$ 1,2 (n = 8) *p = 0,772127	126,5 $\pm$ 3,9 (n = 5) *p = 0,005703 #p = 0,002415

Примітка. Тут і в табл. 2: *порівняно з початковою величиною; #порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2

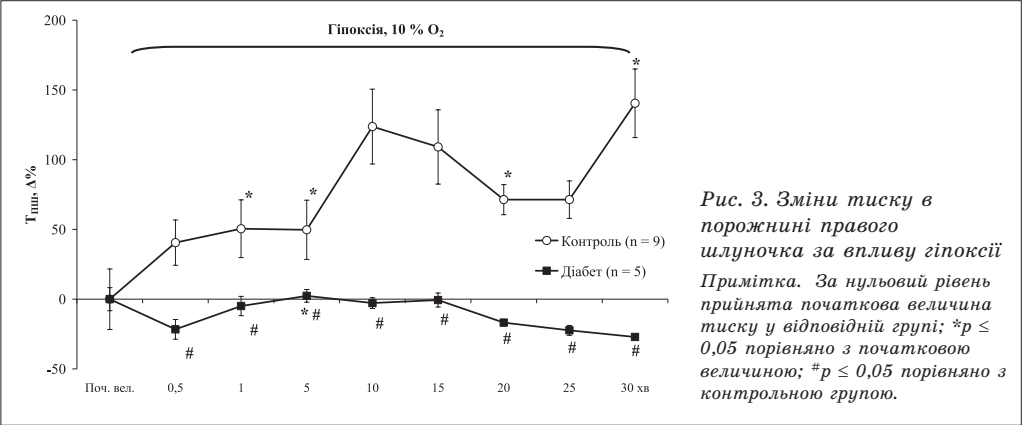
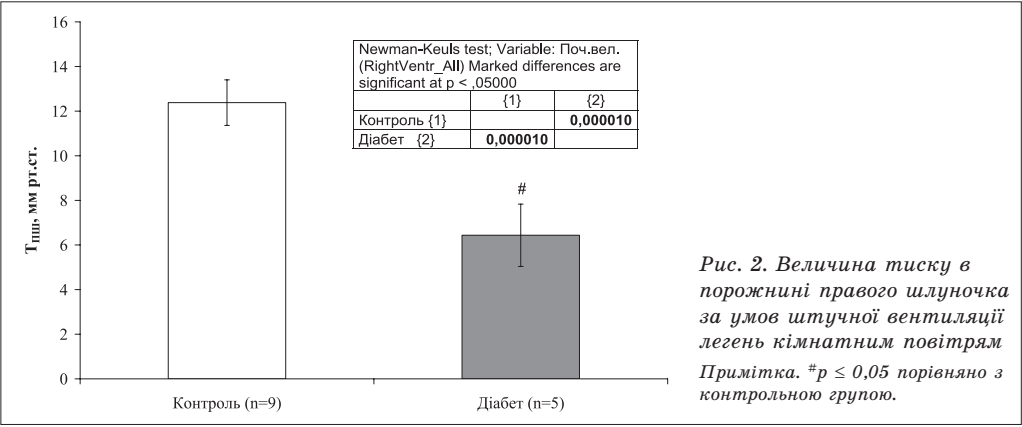
Зміни середнього артеріального тиску за впливу гіпоксії, мм рт. ст. ($M \pm t$)

Група	Початкова величина	Гіпоксія, хв		
		5	15	30
Контроль (n = 8)	113,3 $\pm$ 1,2	64,8 $\pm$ 5,4 *p = 0	63,6 $\pm$ 5,1 *p = 0	62,7 $\pm$ 5,6 *p = 0
Діабет (n=5)	126,5 $\pm$ 3,9 #p = 0,002415	102,1 $\pm$ 4,9 *p = 0,004569 #p = 0,000629	99,7 $\pm$ 4,4 *p = 0,001854 #p = 000539	98,8 $\pm$ 5,1 *p = 0,002565 #p = 001059

ням тиску в порожнині правого шлуночка серця в щурів контрольної групи. Це явище слід розцінювати як прояв характерної для резистивних судин малого кола кровообігу ГЛВ. Хвилеподібні зміни тиску в порожнині правого шлуночка є відображенням двофазної констрикторної реакції ВЛА на тривалу гостру гіпоксію. На відміну від тварин контрольної групи, вентиляція легень щурів зі СТЗ-індукованим діабетом гіпоксичною газовою сумішшю не тільки не супроводжувалася зростанням $T_{\text{пш}}$, а й призводила до його зниження (рис. 3).

Отримані в цій серії дослідів дані вказують на суттєву зміну механізмів регуляції кровообігу в малому колі в разі ЦД.

Підвищення $T_{\text{пш}}$, що ми спостерігали в нормі у відповідь на гіпоксію, є адаптивним процесом, який відсутній у разі ЦД. Реверсія цієї реакції, на наш погляд, може бути пов'язана з декількома механізмами. По-перше, показано, що активація протеїнкінази С (ПКС) при ЦД призводить до змін механіки кардіоміоцитів, що може бути однією з головних причин зниженої скоротливої здатності серця [16]. По-друге,



незважаючи на незмінну експресію в кардіоміоцитах діабетичних щурів ріанодінових рецепторів, спостерігається зменшення виходу Ca^{2+} з внутрішньоклітинного депо та вмісту SERCA 2a (Ca^{2+} АТФ-фаза саркоплазматичного ретикулу), що призводить до порушення електромеханічного супряження в кардіоміоцитах [17, 18]. По-третє, і найголовніше, підвищення тиску в правому шлуночку може бути викликане змінами просвіту судин басейну легеневої артерії.

Враховуючи, що тиск у малому колі кровообігу визначається тонусом дрібних ВЛА, є актуальним дослідження змін просвіту цих судин під впливом гіпоксії та за умов підвищеного вмісту глюкози.

Перфузія препаратів зрізів легень щурів контрольної групи гіпоксичним розчином зі звичайним вмістом глюкози (5,5 ммоль/л) призводила до зменшення просвіту ВЛА. Підвищення концентрації глюкози до 20 ммоль/л за умов нормоксії не супроводжувалося значущими змінами площі просвіту артерій. Незважаючи на майже дворазове зменшення просвіту артерій, виявлені зміни не були вірогідними (табл. 3). Іншими словами, просте збільшення вмісту глюкози не супроводжується значущими змінами скоротливої активності ВЛА.

Іншу картину спостерігали при використанні зрізів легень щурів зі СТЗ-індукованим діабетом. На таких зрізах гіпоксія викликала значне збільшення площі просвіту ВЛА. Підвищення кон-

центрації глюкози за умов нормоксії не призводило до значних змін просвіту ВЛА. Перфузія зрізів гіпоксичним розчином з високим вмістом глюкози супроводжувалася деяким збільшенням площі просвіту ВЛА (табл. 4, рис. 4).

Цей феномен можна пояснити сукупністю взаємопов'язаних процесів, що розвиваються або інтенсифікуються за умов ЦД, а саме: ендотеліальною дисфункцією, активізацією анаеробного гліколізу та окисним стресом.

Ендотеліальна дисфункція (ЕД). Порушення функцій ендотелію зумовлене як прямим впливом біохімічних змін, що характерні для ЦД, так і непрямим шляхом – за рахунок надлишкового синтезу факторів росту, цитокінів і вазоактивних речовин в інших клітинах [19]. На користь ЕД говорять результати досліджень, в яких було показано пригнічення констрикторної реакції, що розвивається у відповідь на агоніст як у щурів з СТЗ-індукованим діабетом, так і в інсулін-резистентних щурів лінії Zucker [20]. В останньому випадку виявлені зміни пов'язують з надмірною активністю iNOS. Проте відомо, що ЦД індукує ЕД у легеневих артеріях за рахунок надлишкового утворення супероксидного аніон-радикала та підвищення вмісту попередника ендотеліну (ЕТ) – big-ЕТ [21–23]. Було показано, що в пацієнтів з ЦД типу II реакція на введення екзогенного ЕТ-1 знижена, що можна розцінювати як порушення процесу ендотелій-залежного скорочення ГМК [24].

Таблиця 3

Зміни просвіту внутрішньолегеневих артерій у тварин контрольної групи під впливом гіпоксії або/та підвищеної концентрації глюкози, % від максимального зменшення площі

Умова	Med	Q1	Q3
Гіпоксія (глюкоза 5,5 ммоль/л) n = 11	- 24,1650 *p = 0,000005	- 35,0000	- 7,1700
Нормоксія (глюкоза 20 ммоль/л) n = 11	8,9300 *p = 0,159463	3,0950	14,9700
Гіпоксія (глюкоза 20 ммоль/л) n = 11	- 42,4000 *p = 0,000001 ^б p = 0,705460	- 46,6000	- 18,0300

Примітка. Символ «-» означає зменшення площі просвіту; *порівняно з початковою величиною; ^бпорівняно з гіпоксією.

**Зміни просвіту внутрішньолегеневих артерій у тварин з цукровим діабетом
під впливом гіпоксії або/та підвищеної концентрації глюкози,
% від максимального зменшення площі**

Умова	Med	Q1	Q3
Гіпоксія (глюкоза 5,5 ммоль/л) n = 5	23,710 *p = 0,000005 #p = 0,002200	12,100	24,000
Нормоксія (глюкоза 20 ммоль/л) n = 5	5,400 *p = 0,061638 #p = 1,000000	3,630	15,710
Гіпоксія (глюкоза 20 ммоль/л) n = 5	6,600 *p = 0,024701 #p = 0,025350 #p = 0,019173	- 4,880	7,500

Примітка. *Порівняно з початковою величиною; #порівняно з гіпоксією; *порівняно з контрольною групою.

Активізація анаеробного гліколізу. Було показано, що в здорових суб'єктів при гіпоксії в ендотелії та ГМК легене-вих артерій гліколіз прискорюється, а активне поглинання глюкози полегшується [25, 26]. Інгібування гліколізу знижує величину реакції легневих артерій на гіпоксію [27, 28]. Проте за умов цукродіабетичної гіперглікемії та пригнічення активності ферментів гліколізу останній поступово зміщується до анаеробного й призводить до накопичення лактату та інших метаболітів [29, 30]. При цьому рівень АТФ у клітині зменшується, знижуючи активність самих клітин [31]. У разі пригнічення гліколізу одночасно накопичу-

ються тріозофосфати, які можуть перетворюватися в α -гліцеринофосфат – попередник діацилгліцеролу, з подальшою активізацією ПКС. Крім того, накопичення тріозофосфатів призводить до утворення карбонільних сполук, що беруть участь в окиснювальній модифікації білків, ліпідів і ДНК [32].

Окисний стрес (ОС). Ключову роль у розвитку ускладнень діабету на мікро- і макросудинних рівнях має ОС. Його виникнення пов'язують з надлишком активних форм кисню (АФК) та азоту [33], що спричинене надмірною продукцією супероксидного аніон-радикала мітохондріями [34]. Додатковим джерелом для збільшеного утворення

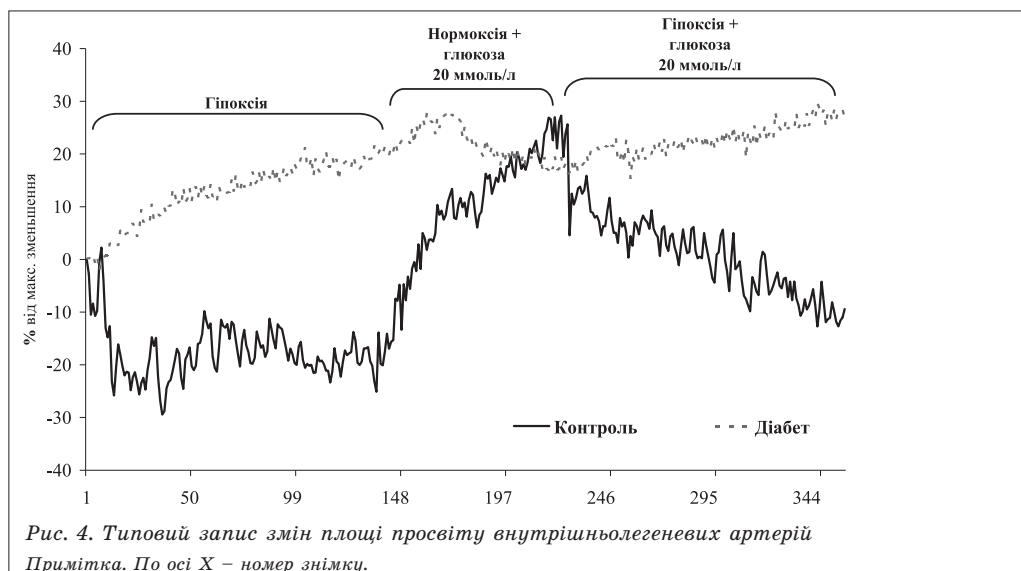


Рис. 4. Типовий запис змін площі просвіту внутрішньолегеневих артерій
Примітка. По осі X – номер знімку.

мітохондріальних форм кисню є вільні жирні кислоти, підвищення вмісту яких вважають важливим предиктором виникнення резистентності до інсуліну [35]. Збільшена генерація супероксиду залучає до патогенезу ускладнень п'ять механізмів: стимуляцію поліолового та гексозамінового шляхів, підвищене утворення кінцевих продуктів глікозилювання (AGEs), експресію рецептора AGEs і активуючих його лігандів, активацію різних ізоформ ПКС [36]. Крім того, ОС безпосередньо інактивує два критичних для подальшого збільшення вмісту внутрішньоклітинних АФК ферменти (eNOS і простагліцин-синтазу), пригнічення активності яких призводить до залучення численних прозапальних механізмів із супутньою експресією прозапальних генів, що зберігаються й після нормалізації рівня глюкози («гіперглікемічна пам'ять»).

Висновок

Усі перелічені чинники можуть бути залучені до реверсії реакції гіпоксичної легеневої вазоконстрикції ВЛА, що розвивається у відповідь на гостру гіпоксію при СТЗ-індукованому ЦД. Залученість цих механізмів у розвиток реверсії реакції легеневої артерії на гіпоксичний вплив, ймовірно, буде відрізнятися на різних ділянках судинного русла. Виявлення таких молекулярних механізмів у місці їхнього виникнення дозволить розробити терапевтичні агенти, які обмежуватимуть появу та прогресування мікросудинних порушень, навіть за відсутності повного контролю вмісту глюкози в крові. Отже, вплив ЦД на механізми скорочення ВЛА потребує подальшого вивчення.

- Schalkwijk G. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction / G. Schalkwijk, A. Stehouwer. // *Clinical Science*. – 2005. – V. 109 (2). – P. 143–159.
- Fouty B. Diabetes and the pulmonary circulation / B. Fouty // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. – 2008. – V. 295 (5). – P. 725–726.
- Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism / M. Brownlee // *Diabetes*. – 2005. – V. 54. – P. 1615–1625.
- Oxidative Stress in Diabetes: Implications for Vascular and Other Complications / D. Pitocco, M. Tesaro, R. Alessandro [et al.] // *Int J. Mol Sci*. – 2013. – V. 14 (11). – P. 21525–21550.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications / M. Brownlee // *Nature*. – 2001. – V. 414. – P. 813–820.
- Luo X. Hyperglycemic stress and carbon stress in diabetic glucotoxicity / X. Luo, S. Jing, L.-J. Yan // *Aging and Disease*. – 2016. – V. 16, № 7 (1). – P. 90–110.
- Regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction: basic mechanisms / N. Sommer, A. Dietrich, R. Schermuly [et al.] // *Eur Respir J*. – 2008. – V. 32. – P. 1639–1651.
- Kizub I. Protein kinase C in enhanced vascular tone in diabetes mellitus / I. Kizub, K. Klymenko, A. Soloviev // *International Journal of Cardiology*. – 2014. – V. 174. – P. 230–242.
- Shah M. Molecular and Cellular Mechanisms of Cardiovascular Disorders in Diabetes / M. Shah, M. Brownlee // *Circulation Research*. – 2016. – V. 118. – P. 1808–1829.
- Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I / F. Paneni, J. Beckman, M. Creager [et al.] // *European Heart Journal*. – 2013. – V. 34. – P. 2436–2446.
- Giacco F. Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // *Circ Res*. – 2010. – V. 107, № 9. – P. 1058–1070.
- Integrative understanding of hypoxic pulmonary vasoconstriction using in vitro models: from ventilated/perfused lung to single arterial myocyte / H. Yoo, S. Park, H. Kim [et al.] // *Integrative Medicine Research*. – 2014. – V. 3. – P. 180–188.
- Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» // *Відомості Верховної Ради України*. – 2006. – № 27. – С. 230.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – P. 53.
- Відео мікроскопічний аналіз скоротливої активності внутрішньолегеневих артерій у реальному часі / Є. В. Стрелков, О. В. Паршиков, І. В. Кізуб [та ін.] // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2013. – № 4–5. – С. 76–80.
- Diabetic cardiomyocyte dysfunction and myocyte insulin resistance: role of glucose-induced PKC activity / A. Davidoff, M. Davidson, M. Carmody [et al.] // *Mol Cell Biochem*. – 2004. – V. 262 (1–2). – P. 155–163.
- Darrell D. Decreased sarcoplasmic reticulum activity and contractility in diabetic db/db mouse heart / D. Darrell, E. Swanson, W. Dillmann // *Diabetes*. – 2004. – V. 53 (12). – P. 3201–3208.
- Cardiomyocyte dysfunction in models of type 1 and type 2 diabetes / P. Kralik, G. Ye, N. Metreveli [et al.] // *Cardiovasc Toxicol*. – 2005. – V. 5 (3). – P. 285–292.

19. Sena C. Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease / C. Sena, A. Pereira, R. Seica // *Biochim Biophys Acta*. – 2013. – V. 1832 (12). – P. 2216–2231.
20. Gurney A. Effects of streptozotocin-induced diabetes on the pharmacology of rat conduit and resistance intrapulmonary arteries // A. Gurney, F. Howarth / *Cardiovascular Diabetology*. – 2009. – V. 8 (4); doi:10.1186/1475-2840-8-4
21. Diabetes induces pulmonary artery endothelial dysfunction by NADPH oxidase induction / J. Lopez-Lopez, J. Moral-Sanz, G. Frazziano [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2008. – V. 295. – P. 727–732.
22. Wolin M. Interactions of oxidants with vascular signaling systems / M. Wolin // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2000. – V. 20, № 6. – P.1430–1442.
23. Mechanisms of protection against diabetes-induced impairment of endothelium-dependent vasorelaxation by Tanshinone IIA / Y. Li, Q. Xu, W. Xu [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2015. – V. 1850, № 4. – P. 813–823.
24. Impaired vasoconstriction to endothelin 1 in patients with NIDDM / A. Nugent, C. McGurk, J. Hayes [et al.] // *Diabetes*. – 1996. – V. 45. – P. 105–107.
25. Dipp M. Cyclic ADP-ribose is the primary trigger for hypoxic pulmonary vasoconstriction in the rat lung in situ / M. Dipp, A. Evans // *Circ Res.* – 2001. – V.6. – P. 77 – 83.
26. Lih N. Mobilization of sarcoplasmic reticulum stores by hypoxia leads to consequent activation of capacitative Ca^{2+} entry in isolated canine pulmonary arterial smooth muscle cells / N. Lih, W. Sean, H. Joseph // *J. Physiol.* – 2005. – V. 563, № 2. – P. 409–419.
27. Wiener C. Effects of glucose on hypoxic vasoconstriction in isolated ferret lungs / C. Wiener, J. Sylvestre // *Journal of Applied Physiology*. – 1991. – V. 70, № 1. – P. 439–446.
28. Soloviev A. Selective glycolysis blockade in guinea pig pulmonary artery and aorta reverses contractile and electrical responses to acute hypoxia / A. Soloviev, A. I. Bondarenko, I. V. Kizub // *Vascular Pharmacology*. – 2012. – V. 57, № 2. – P. 119–123.
29. Pogatsa G. Metabolic energy metabolism in diabetes: therapeutic implications / G. Pogatsa // *Coron Artery Dis.* – 2001. – V. 1. – P. 29–33.
30. Glycolysis in the control of blood glucose homeostasis / X. Guoa, H. Lia, H. Xua [et al.] // *Diabetes and Obesity*. – 2012. – V. 2. – P. 358–367.
31. Relation between increased anaerobic glycolysis and visual acuity in long-standing type 2 diabetes mellitus without retinopathy / L. Mondal, K. Baidya, B. Bhattacharya [et al.] // *Indian J. Ophthalmol.* – 2006. – V. 54. – P. 43–44.
32. Pennathur S. Mechanisms for oxidative stress in diabetic cardiovascular disease // S. Pennathur, J. W. Heinecke // *Antioxid. Redox Signal.* – 2007. – V. 9, № 7. – P. 955–969.
33. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases / T. Fiorentino, A. Priolella, P. Zuo [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2013. – V. 19, № 32. – P. 5695–5703.
34. Impaired mitochondrial respiratory functions and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats / H. Raza, S. K. Prabu, A. John [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2011. – V. 12 (5). – P. 3133–3147.
35. Lazo-de-la-Vega-Monroy M-L. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions / M-L. Lazo-de-la-Vega-Monroy, C. Fernández-Mejía. – P. 209–232; doi: 10.5772/51788.
36. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications / A. Negre-Salvayre, R. Salvayre, N. Augé [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – V. 11, № 12. – P. 3071–3109.

О. С. Хромов, Н. С. Гула, Н. В. Добреля, А. І. Соловйов

Вплив цукрового діабету на розвиток гіпоксичної легеневої вазоконстрикції

Системна судинна дисфункція є ключовим механізмом розвитку ускладнень при цукровому діабеті (ЦД) I та II типу. У процес залучаються судини мікро- і макроциркуляційної мережі. Зміни шляхів метаболізму глюкози за умов ЦД призводять до обмеження компенсаторних можливостей судин до поточних потреб тканин і органів. До розвитку розладів судинної системи залучені декілька патологічних ефектів гіперглікемії, що діють як на клітини ендотелію, так клітини гладенької мускулатури судин. Незважаючи на той факт, що в легеневої судинної мережі та системному кровообігу одні й ті самі рівні глюкози й інсуліну, пошкоджуючі наслідки діабету в легенях є менш клінічно очевидними.

Гіпоксія являється одним з основних чинників розвитку патологічних ускладнень, у тому числі за умов ЦД, хоча й у нормі відіграє важливу роль у фізіологічних реакціях організму. У відповідь на гіпоксію в артеріях малого кола кровообігу виникає гіпоксична легенева вазоконстрикція (ГЛВ), яка за фізіологічних умов є показником здатності артерій до регуляції легеневого кровообігу для підтримки нормального вентиляційно-перфузійного співвідношення. Зміни цього механізму, у кінцевому рахунку, можуть призводити до ускладнень у роботі серцево-судинної системи. Разом з цим, залишається мало з'ясованим вплив гострої гіпоксії на стан легеневого кровообігу за умов ЦД. З огляду на дані літератури щодо негативного впливу спільної дії гіпоксії та високого вмісту глюкози на судини великого кола кровообігу, можна зробити припущення про модулюючий вплив гіперглікемії на реакції судин малого кола кровообігу за умов ЦД.

Мета дослідження – оцінка скоротливої здатності внутрішньолеговених артерій (ВЛА) за дії гіпоксії в щурів з ЦД. У даному дослідженні гостра гіпоксія є маркером визначення стану легеневої циркуляції за умов підвищеної концентрації глюкози та ЦД.

Дослідження були проведені на 40 дорослих білих щурах-самцях лінії Wistar, розділених на 2 групи. Перша група була контрольною, а у тварин другої групи моделювали ЦД шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення стрептозотину (СТЗ) у дозі 65 мг/кг. Гострі експерименти проводили через два місяці після введення СТЗ. У дослідях *in vivo* оцінювали тиск у правому шлуночку серця ($T_{пш}$) методом ретроградної катетеризації. У дослідях *in vitro* вивчали реактивність ВЛА за допомогою відеомікроскопічного аналізу просвіту ВЛА в реальному часі.

У щурів з експериментальним ЦД через 2 місяці після введення СТЗ вміст глюкози в крові підвищився з $(6,9 \pm 0,2)$ до $(26,2 \pm 0,4)$ ммоль/л ($p < 0,001$).

Результати дослідів *in vivo* підтвердили дані про розвиток ГЛВ у тварин контрольної групи: вентиляція легень гіпоксичною газовою сумішшю (10 % O_2), супроводжувалась значним збільшенням $T_{пш}$ з $(12,4 \pm 1,2)$ до $(29,4 \pm 3,1)$ мм рт. ст. ($p < 0,001$). У щурів зі СТЗ-індукованим ЦД гіпоксія призводила до зниження $T_{пш}$ з $(6,4 \pm 1,3)$ до $(4,7 \pm 0,03)$ мм рт. ст. ($p < 0,05$).

Перфузування зрізів легень гіпоксичним розчином (10 % O_2 , 90 % N_2) у разі концентрації глюкози 5,5 ммоль/л у контрольній групі супроводжувалося зменшенням просвіту ВЛА на 24,2 %, а за умов ЦД відбувалося збільшення просвіту ВЛА на 23,7 % ($p < 0,05$). Підвищення концентрації глюкози до 20 ммоль/л призводило до зменшення просвіту ВЛА щурів контрольної групи на 42,4 %, у той час як у тварин з ЦД відбувалося збільшення просвіту ВЛА на 6,6 % ($p < 0,05$).

Таким чином, була виявлена різниця в реакції легених артерій на дію гострої гіпоксії в щурів контрольної групи та тварин з експериментальним ЦД. Вірогідно, до реверсії реакції залучені взаємопов'язані процеси, що розвиваються або інтенсифікуються за умов ЦД, а саме: ендотеліальна дисфункція, окисний стрес та пригнічення гліколізу. Конкретні механізми, що беруть участь у регуляції кровообігу в малому колі за умов ЦД залишаються не з'ясованими, а тому вивчення їх дозволить створити терапевтичні засоби, які обмежуватимуть появу й прогресування мікросудинних порушень навіть за відсутності повного контролю вмісту глюкози в крові.

Ключові слова: цукровий діабет, внутрішньолеговені артерії, гіпоксія

А. С. Хромов, Н. С. Гула, Н. В. Добреля, А. И. Соловьев

Влияние сахарного диабета на развитие гипоксической легочной вазоконстрикции

Системная сосудистая дисфункция является ключевым механизмом развития возникающих осложнений при сахарном диабете (СД) I та II типа. В процесс вовлекаются сосуды микро- и макроциркуляторной сети. Изменение путей метаболизма глюкозы при СД приводит к ограничению компенсаторных возможностей сосудов по обеспечению текущих потребностей тканей и органов. В развитии осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы вовлечена совокупность патологических эффектов гипергликемии, оказывающих влияние на эндотелиоциты и миоциты сосудов. Несмотря на то, что в легочной сосудистой сети и системном кровообращении одни и те же уровни глюкозы и инсулина, повреждающие последствия диабета в легких клинически менее очевидны.

Гипоксия является одной из основных причин развития осложнений, в том числе и при СД, хотя в норме играет важную роль в физиологических реакциях организма. В ответ на гипоксию в артериях малого круга кровообращения возникает гипоксическая легочная вазоконстрикция (ГЛВ), являющаяся показателем способности артерий к регуляции легочного кровообращения для поддержания нормального вентиляционно-перфузионного соотношения. Изменения этого механизма в конечном итоге могут приводить к осложнениям в работе сердечно-сосудистой системы. Вместе с тем, остается малоизвестным влияние гипоксии на состояние легочного кровообращения при СД. Учитывая данные литературы о негативном совместном действии гипоксии и высокого содержания глюкозы на сосуды большого круга кровообращения, можно сделать предположение о модулирующем влиянии гипергликемии на реакции сосудов малого круга кровообращения при СД.

Цель исследования – оценка сократительной активности внутрилегочных артерий (ВЛА) при действии гипоксии у крыс с СД. В данной работе гипоксия выступает маркером определения состояния легочной циркуляции в условиях повышенной концентрации глюкозы и СД.

Исследования были проведены на 40 взрослых белых лабораторных крысах, разделенных на 2 группы. Первая группа была контрольной, у животных второй группы моделировали СД путем однократного внутривентрального введения стрептозотина (СТЗ) в дозе 65 мг/кг. Острые эксперименты проводили через 2 месяца после введения СТЗ. В опытах *in vivo* методом ретроградной катетеризации оценивали давление в правом желудочке сердца ($D_{пж}$). В опытах *in vitro* изучали реактивность ВЛА диаметром 150–200 мкм при помощи видеомикроскопического анализа площади просвета ВЛА в реальном времени.

У крыс с экспериментальным СД через 2 месяца после введения СТЗ содержание глюкозы в крови повысилось с $(6,9 \pm 0,2)$ до $(26,2 \pm 0,4)$ ммоль/л ($p < 0,001$).

Результаты опытов *in vivo* подтвердили данные о развитии ГЛВ у животных контрольної групи: вентиляция легких гипоксической газовой смесью (10 % O_2) сопровождалась значительным увели-

чением $D_{\text{пж}}$ сердца с $(12,4 \pm 1,2)$ до $(29,4 \pm 3,1)$ мм рт. ст. ($p < 0,001$). У крыс с СТЗ-индуцированным СД гипоксия приводила к снижению $D_{\text{пж}}$ с $(6,40 \pm 1,30)$ до $(4,70 \pm 0,03)$ мм рт. ст. ($p < 0,05$).

Перфузия срезов легких гипоксическим раствором (10 % O_2 , 90 % N_2) при концентрации глюкозы 5,5 ммоль/л в контрольной группе сопровождалась уменьшением просвета ВЛА на 24,2 %, а при СД регистрировалось увеличение просвета артерий на 23,7 % ($p < 0,05$). Повышение концентрации глюкозы до 20 ммоль/л приводило к уменьшению просвета сосудов крыс контрольной группы на 42,4 %, в то время как у животных с СД регистрировалось увеличение просвета ВЛА на 6,6 % ($p < 0,05$).

Таким образом, было выявлено различие в реакции легочных артерий на действие острой гипоксии у крыс контрольной группы и животных с экспериментальным СД. Вероятно, в реверсию реакции ГЛВ вовлечены взаимосвязанные процессы, развивающиеся или интенсифицирующиеся при СД, а именно: эндотелиальная дисфункция, окислительный стресс и угнетение гликолиза. Конкретные механизмы, участвующие в регуляции кровообращения в малом круге при СД остаются неизвестными, а их изучение позволит создать терапевтические средства, которые ограничат появление и прогрессирование микрососудистых нарушений даже при отсутствии полного контроля содержания глюкозы в крови.

Ключевые слова: сахарный диабет, внутрилегочные артерии, гипоксия

A. Khromov, N. Hula, N. Dobrelia, A. Soloviev **Peculiarity of hypoxic pulmonary vasoconstriction in diabetic rats**

Systemic vascular dysfunction is a key mechanism of diabetic complications. Both micro- and macrocirculatory vascular networks are involved in this process. Glucose metabolism changes lead to the restriction of compensatory abilities of vessels aimed to ensure the current needs of tissues and organs. Many pathological hyperglycemic factors influencing the endothelial and smooth muscle cells are involved in cardiovascular complications. Despite the fact that lung circulation has the same level of glucose and insulin as systemic circulation, the detrimental effect of diabetes on the lungs is less clinically apparent.

Hypoxia plays an important role in the physiological reactions, even though it can be one of the main causes of different pathological complications, including those in diabetes. Hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV) is a measure of lung arteries capability to regulate the lung circulation for maintaining the normal ventilation/perfusion ratio. Diabetic-induced cardiovascular complications can be a result of changes in this mechanism. The way which hypoxia affects lung circulation in diabetes remains still unclear. Considering the literature data on the negative impact of hypoxia and high glucose levels on the systemic circulation, one can make an assumption about modulating action of hyperglycemia on the lung vessels in diabetes.

The study was aimed to examine the contractile activity of intrapulmonary arteries to hypoxia in diabetic rats. In this study, hypoxia acts as a marker of lung circulation effectiveness under high glucose levels and diabetes.

In this study, 40 male Wistar rats were divided into 2 groups. The first group of rats served as a control; and diabetic rats were the second group. Diabetes was induced in Wistar rats via a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) in dose 65 mg/kg. Acute experiments were performed in 2 month after STZ injection. Right ventricle pressure (RVP) was measured *in vivo* with retrograde catheterization. Reactivity of intrapulmonary arteries (IPAs) was measured *in vitro* with real time video microscopic analysis of lumen areas in intrapulmonary arteries with diameter 150–200 μm .

The mean blood glucose level raised from $(6,9 \pm 0,2)$ to $(26,2 \pm 0,4)$ mM/L ($p < 0,001$) in 2 month after STZ treatment.

In vivo results confirmed the occurrence of HPV in control animals: lung ventilation with hypoxic gas mixture (10 % O_2 , 90 % N_2) was accompanied with raise in RVP from $(12,4 \pm 1,2)$ to $(29,4 \pm 3,1)$ mm Hg ($p < 0,001$). In diabetic animals, hypoxia surprisingly led to decrease in RVP from $(6,44 \pm 1,3)$ to $(4,69 \pm 0,03)$ mm Hg ($p < 0,05$).

Perfusion of lung slices with hypoxic solution (10 % O_2 , 90 % N_2) in 5,5 mM/L glucose was accompanied with decrease in IPAs lumens by 24,2 % in the control animals, but in diabetes, in contrast, it led to increase in IPAs lumens by 23,7 % ($p < 0,05$). Elevation of glucose level up to 20 mM/L in the control slices led to decrease in IPAs lumens by 42,4 %, while in the diabetes tissues, it led to an increase in IPAs lumens by 6,6 % ($p < 0,05$).

Thus the difference in response of IPAs to acute hypoxia between control and diabetic groups of animals was detected. Such a reversion of this response may be caused by the following interrelated processes developed or intensified in diabetes: endothelial dysfunction, oxidative stress, and inhibition of glycolysis. There is no clear evidence about specific mechanisms of regulation of lung circulation in diabetes, and their studying will allow to create the medicines that can prevent or minimize occurrence and progression of microvascular disorders even in the absence of complete control of blood glucose level.

Key words: diabetes, intrapulmonary arteries, hypoxia

Надійшла: 21 лютого 2017 р.

Контактна особа: Хромов Олександр Станіславович, головний науковий співробітник,
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03057.
Тел.: + 38 0 44 456 02 88. Електронна пошта: askhromov@ukr.net

О. В. Крайдашенко¹, І. Ф. Бєленічев¹, Р. В. Стець¹,
Ю. А. Косого², Л. М. Каптур³, М. А. Аніщенко¹

Правове забезпечення фармаконагляду в Україні та шляхи його вдосконалення

¹Запорізький державний медичний університет

²Департамент охорони здоров'я Запорізької обласної державної адміністрації,
м. Запоріжжя

³Комунальна установа «Обласний центр медичної статистики», м. Запоріжжя

Ключові слова: фармаконагляд, лікарські засоби, побічна реакція, непередбачена побічна реакція

Концепція сучасної правової та соціальної держави обов'язково має передбачати реальні механізми захисту прав людини, особливо таких основоположних особистих природних прав, як право людини на життя та здоров'я, які мають найбільше значення. Тим більше, що відповідно до статті 3 Конституції України, людина, її життя та здоров'я, честь і гідність, недоторканність і безпека визнаються в Україні найвищою соціальною цінністю [1].

Одним з аспектів реалізації вищезазначених прав є право людини на медичну допомогу, яке передбачено статтею 49 Конституції України [1].

Відповідно до статті 3 Основ законодавства України про охорону здоров'я, медичною допомогою є діяльність професійно підготовлених медичних працівників, яка спрямована на профілактику, діагностику, лікування та реабілітацію в зв'язку з хворобами, травмами, отруєннями та патологічними станами, а також у зв'язку з вагітністю та пологами [2].

Лікування зазвичай пов'язано зі застосуванням лікарських засобів та їхнім впливом на організм людини. Безпека лікарських засобів завжди була й буде перебувати у сфері інтересів суспільства та держави, оскільки стосується широкого кола питань, пов'язаних з фармакотерапією практично всіх захворювань, впливає на життєдіяльність людини та існування соціуму. На жаль, абсолютно безпечних лікарських засо-

бів немає. Медичне застосування препаратів може супроводжуватися виникненням побічних реакцій, які зумовлені фармакологічними властивостями лікарських засобів або специфічною реакцією організму на введення медикаменту [3–9].

Ті чи інші проблемні аспекти фармаконагляду в своїх наукових працях відображали такі вітчизняні та зарубіжні вчені, як А. Астахова, В. Лепахін, І. Чекман, О. Вікторов, Н. Горчакова, І. Бєленічев, В. Мальцев, Ю. Белоусов, К. Рахімов, Л. Пальгова, А. Аленова, К. Зординова, Б. Курманова, М. Леонова та інші. Однак питання, пов'язані зі збором даних про небажані побічні реакції лікарських засобів, а також з юридичною відповідальністю за недотримання законодавства в сфері фармаконагляду залишаються досі невирішеними.

Мета дослідження – вивчення правових проблем фармаконагляду в Україні та окреслення перспективних шляхів їхнього вирішення.

Матеріали та методи. У даному дослідженні використано наступні методи наукового дослідження: статистичний, порівняльно-правовий, метод аналізу, метод синтезу.

Результати та їх обговорення. До нормативних актів, які регулюють обіг лікарських засобів, а також державні вимоги до них, належить Закон України «Про лікарські засоби», наказ Міністерства охорони здоров'я України від 23 вересня 2009 року № 690 «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про

комісії з питань етики», наказ Міністерства охорони здоров'я України від 27 грудня 2006 року № 898 «Про затвердження Порядку здійснення нагляду за побічними реакціями лікарських засобів, дозволених до медичного застосування» та інші нормативно-правові акти України.

Відповідно до вищезазначеного наказу МОЗ України від 27 грудня 2006 № 898, непередбачена побічна реакція – побічна реакція, характер або тяжкість проявів якої не узгоджується з наявною інформацією про лікарський засіб (з інструкцією для медичного застосування зареєстрованого лікарського засобу). Відповідно до п. 2.16. вищезгаданого документа, побічна реакція – будь-яка небажана негативна реакція, яка виникає при застосуванні лікарських засобів. Небажана побічна реакція (НПР) – це будь-яка ненавмисна й шкідлива для організму людини реакція, яка виникає в разі використання лікарського препарату в звичайних дозах з метою профілактики, лікування та діагностики [4, 10]. Лікар, призначаючи фармакотерапію, зобов'язаний зіставити користь і можливий ризик розвитку всіляких ускладнень лікування. Незалежно від того, наскільки ретельно були підібрані препарати, завжди залишається ризик виникнення НПР. Деякі з цих ускладнень відомі, вони внесені в усі довідники та інструкції; інші навіть важко розпізнати, бо вони зустрічаються вкрай рідко, не відображені в жодних анотаціях і посібниках. НПР нерідко становлять небезпеку для життя хворого і вимагають невідкладних заходів корекції. Згідно з даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ), смертність від НПР вийшла на четверте місце після серцево-судинних захворювань, травматизму та нещасних випадків, а також онкологічних захворювань [5, 11]. Велика кількість хворих потребує госпіталізації в зв'язку з ускладненнями фармакотерапії. Так, у Норвегії вона становить 11,5 % від загального числа госпіталізацій, у Франції – 13,0 %, у Великобританії – 16,0 %, у США – до 28,2 % [4, 5, 10]. НПР, що розвиваються в стаціонарі, стають причиною смер-

ті 0,10 % терапевтичних і 0,01 % хірургічних хворих [8]. Високі й економічні втрати. Витрати, що пов'язані з лікарсько-зумовленими хворобами та смертністю, у США становлять 76 млрд доларів на 1 рік [9]. До найпоширеніших НПР відносяться пригнічення кісткомозкового кровотворення, кровотечі, несприятливі ефекти з боку центральної нервової системи, ураження шкіри та алергічні реакції, порушення метаболізму, серцево-судинні реакції, диспептичні явища й респіраторні ускладнення [10]. НПР зустрічаються у хворих усіх вікових груп, проте частіше лікарсько-залежні ускладнення виникають у літніх пацієнтів. Це зумовлено тим, що саме серед даного контингенту поширене зловживання ліками, самолікування, тривала комбінована фармакотерапія. Нещодавно проведене у Великобританії дослідження підтверджує цей факт: так, прийом ацетилсаліцилової кислоти викликає ускладнення в літніх людей у 18 % випадків [11]. Фармакотерапія в цих пацієнтів повинна контролюватися на всіх етапах лікування. Особливої уваги заслуговує прийом декількох ліків одночасно, що може призвести до небажаних взаємодій і розвитку НПР. Так, у разі призначення 4–5 препаратів частота взаємодій становить 4,2 %, зростаючи аж до 45,0 % за призначення більшого числа лікарських засобів [12]. Серед найчастіших причин виникнення побічних реакцій у разі застосування лікарських засобів у результаті медичних помилок слід зазначити такі:

- ігнорування лікарями даних анамнезу генетичного та анамнезу хвороби;
- ігнорування лікарями положень, викладених в інструкції для медичного застосування препаратів;
- недостатня ознайомленість лікарів про численні синоніми торгових найменувань генеричних препаратів, що містять однакову діючу речовину;
- недостатні знання лікарів про механізми виникнення лікарської алергії, зокрема, перехресної;
- недостатні знання лікарів про клініко-фармакологічну характеристику конкретного препарату;

– недостатні знання лікарів про механізми й особливості клінічних проявів взаємодії лікарських засобів при їхньому одночасному застосуванні [6]. Багато важких і рідкісних НПР виявляються вже після реєстрації лікарського засобу, у так званий постмаркетинговий період. Однак низьке число спонтанних повідомлень від медичних працівників (стає відомо про 1–10 % від загального числа НПР) ускладнює процес реєстрації подібних випадків. Аналізуючи отримані повідомлення, можна з'ясувати, після прийому яких препаратів і в яких дозах найчастіше виникають НПР, а також які комбінації ліків потенціюють розвиток ускладнень фармакотерапії. Здійснення нагляду за побічними реакціями лікарських засобів, дозволених до медичного застосування, покладено МОЗ України на державне підприємство «Державний експертний центр МОЗ України» (далі – Центр) [13].

За результатами такого нагляду, Центр надає пропозиції до МОЗ України щодо прийняття рішення стосовно повної або тимчасової заборони медичного застосування лікарського засобу в таких випадках:

- у разі виявлення раніше невідомих небезпечних властивостей лікарського засобу, які призвели або можуть призвести до тяжких наслідків для здоров'я та життя людини;
- у випадках, коли ризик від застосування лікарського засобу перевищує користь [13].

Однак щодо захисту прав пацієнтів у разі виявлення НПР при застосуванні лікарських засобів у діючому законодавстві України конкретно нічого не прописано.

У Запорізьке регіональне відділення Центру за 2016 рік надійшло 714 повідомлень про НПР лікарських засобів.

З метою вдосконалення роботи з виявлення НПР і розробки заходів щодо запобігання лікарських ускладнень активно розвивається новий напрям клінічної фармакології – фармаконагляд (pharmacovigilance). Згідно з визначенням ВООЗ, це наука й діяльність,

спрямовані на виявлення, оцінку та попередження НПР та/або будь-яких інших можливих проблем, пов'язаних з лікарськими засобами. Відповідно до Порядку здійснення нагляду за побічними реакціями лікарських засобів, дозволених до застосування, затвердженого наказом МОЗ України від 27 грудня 2006 року № 898 (далі – Порядок), фармаконагляд – вид діяльності, пов'язаний зі збором, визначенням, оцінкою, вивченням та запобіганням виникненню побічних реакцій чи проблем, пов'язаних з застосуванням лікарських засобів [13]. Натепер у сферу інтересів цієї галузі медицини додатково включений контроль безпеки препаратів крові, біологічно активних добавок, засобів традиційної медицини (у тому числі лікарських рослин), вакцин та виробів медичного призначення [3, 10]. Кінцевою метою фармаконагляду є зниження захворюваності та смертності, які зумовлені лікарськими засобами. Досягти цього можна тільки в разі здійснення комплексу заходів, найважливіші з яких наведені нижче: удосконалення роботи національної служби фармаконагляду, підготовка відповідних фахівців охорони здоров'я, зміна стереотипів у роботі лікарів з метою скорочення числа нераціональних призначень лікарських препаратів, зміна ставлення хворих до необґрунтованого прийому ліків, особливо при самолікуванні. Як видно з визначення фармаконагляду, збір інформації щодо виникнення побічних реакцій є одним з важливих аспектів фармаконагляду. Відповідно до п. 4.1. Порядку, Інформація про побічні реакції та/або відсутність ефективності лікарських засобів, дозволених до медичного застосування, надходить до Центру від:

- працівників з медичною та/або фармацевтичною освітою всіх закладів охорони здоров'я незалежно від форм власності;
- усіх закладів охорони здоров'я незалежно від форм власності;
- заявників;
- Держлікслужби України та територіальних органів Держлікслужби України;
- регіональних відділень Центру;

- ЮНІСЕФ, ВООЗ, міжнародних агентств (ЕМА (Європейське медичне агентство), FDA (Агентство з контролю за лікарськими засобами та харчовими продуктами США), MHRA (Агентство з регулювання обігу лікарських засобів і виробів медичного призначення Великобританії), Health Canada (Міністерство охорони здоров'я Канади), TGA (Агентство з контролю за лікарськими засобами та виробами медичного призначення Австралії), Swissmedic (Агентство з лікарських засобів Швейцарії), PMDA (Агентство з контролю за лікарськими засобами та виробами медичного призначення Японії) та інших міжнародних організацій;
- медичних інформаційних джерел та наукових видань;
- пацієнтів та/або їхніх представників, організацій, які представляють інтереси пацієнтів, за формою, наведеною в додатку 3 до цього Порядку;
- з інших джерел [13].

Однак представники сфери охорони здоров'я дуже часто не зацікавлені в наданні інформації про побічні реакції лікарських засобів. Пацієнти в своїй більшості також не наділені достатнім рівнем правосвідомості для надання відповідної інформації про побічну дію лікарських засобів, а також не мають достатнього рівня медичних знань, щоб відрізнити побічну реакцію лікарського засобу від хвороб або патологічних станів іншого походження. Тому як з медичними працівниками, так і з пацієнтами потрібно проводити роз'яснювальну правовиховну та правоосвітню роботу з метою усвідомлення ними необхідності надавати інформацію щодо побічних реакцій лікарських засобів.

Значну роль у вирішенні завдань фармаконагляду також відіграє рівень дотримання медичними та фармацевтичними працівниками своїх службових обмежень, що встановлені статтею 78-1 Закону України «Основи законодавства України про охорону здоров'я». Так, медичні і фармацевтичні працівники під час здійснення ними професійної діяльності не мають права:

- 1) одержувати від суб'єктів господарювання, які здійснюють виробництво та/або реалізацію лікарських засобів, виробів медичного призначення, їхніх представників неправомірну вигоду;
- 2) одержувати від суб'єктів господарювання, які здійснюють виробництво та/або реалізацію лікарських засобів, виробів медичного призначення, їхніх представників зразки лікарських засобів, виробів медичного призначення для використання в професійній діяльності (крім випадків, пов'язаних з проведенням відповідно до договорів клінічних досліджень лікарських засобів або клінічних випробувань виробів медичного призначення);
- 3) рекламувати лікарські засоби, виробів медичного призначення, у тому числі виписувати лікарські засоби на бланках, що містять інформацію рекламного характеру, та зазначати виробників лікарських засобів (товаровельних марок);
- 4) на вимогу споживача під час реалізації (відпуску) лікарського засобу не надавати або надавати недостовірну інформацію про наявність у даному аптечному закладі лікарських засобів з такою самою діючою речовиною (за міжнародною непатентованою назвою), формою відпуску та дозуванням, зокрема, приховувати інформацію про наявність таких лікарських засобів за нижчою ціною [2].

За порушення таких обмежень встановлено відповідальність медичних та фармацевтичних працівників, що передбачена ст. 44-2 Кодексу України про адміністративні правопорушення [14]. Однак, як свідчить практика, далеко не всі медичні та фармацевтичні працівники дотримуються вищезазначених обмежень.

Відповідно до статті 27 Закону України «Про лікарські засоби», особи, винні в порушенні законодавства про лікарські засоби, несуть дисциплінарну, адміністративну, цивільно-правову або кримінальну відповідальність згідно із законодавством [15]. Однак конкретної відповідальності за порушення саме вимог фармаконагляду чинне законодавство

України не передбачає. Так само, як не передбачає жодних стимулів для суб'єктів подання інформації про побічні реакції лікарських засобів, у тому числі й моральних.

Таким чином, масштаб проблеми НПР і безпеки ліків визначає необхідність стратегічного її вирішення, яке можливе лише за активної участі як практикуючих лікарів, так і організаторів охорони здоров'я. Нагадуємо лікарям, що координація фармакологічного нагляду, інформаційна підтримка, збір і аналіз повідомлень у Запорізькій області проводиться співробітниками регіонального відділення Державного фармакологічного центру, а також співробітниками кафедри клінічної фармакології ЗДМУ.

Висновок

З метою досягнення оптимальної ефективності фармаконагляду компетентним державним органом необхідно здійснювати наступні напрями діяльності: здійснення заходів, спрямованих на підвищення рівня медичних та юридичних знань пацієнтів, підвищення рівня їхньої правосвідомості; передбачити у відповідних нормативно-правових актах юридичну відповідальність за порушення вимог фармаконагляду; встановити стимуляційні механізми щодо заохочення дотримання законодавства в сфері фармаконагляду; розробити та передбачити у законодавчих актах реальні механізми захисту прав пацієнтів при виникненні непередбачених побічних реакцій.

1. Конституція України: Закон від 28.06.1996 № 254к/96-ВР [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/254k/96-vr>
2. Основи законодавства України про охорону здоров'я: Закон від 19.11.1992 № 2801-ХІІ [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/2801-12>
3. Астахова А. В. Неприятливі побічні реакції й контроль безпеки ліків. Посібник з фармаконагляду / А. В. Астахова, В. К. Лепакін. – Москва : Когіто-Центр, 2004. – 200 с.
4. Побічні реакції серцево-судинних засобів: Посібник для студентів ВМНЗ України, Рекомендовано МОН України від 11.03.2010 № 1/11-1653 / [І. С. Чекман, О. П. Вікторов, Н. О. Горчакова, І. Ф. Беленічев]. – Київ, 2011. – 88 с.
5. Безопасность лекарств. Руководство по фармаконадзору ; под. ред. А. П. Викторова, В. И. Мальцева, Ю. Б. Белоусова. – Киев : МОРИОН, 2007. – 240 с.
6. Справочник по побочным действиям лекарственных средств. Составители: К. Д. Рахимов, Л. К. Пальгова, А. Х. Аленова, К. А. Зординова, Б. С. Курманова. – Алматы, 2004 – 224 с.
7. Чекман І. С. Фармакологія та клінічна фармакологія. Побічна дія лікарських засобів та фармакологічний нагляд за безпекою застосування ліків в Україні: Методичні рекомендації МОЗ України / І. С. Чекман, О. П. Вікторов, І. Ф. Беленічев. – Київ, 2007. – 77 с.
8. Основы клинической фармакологии и рациональной фармакотерапии; под ред. Ю. Б. Белоусова, М. М. Леоновой. – Москва : Бионика, 2002.
9. Чекман І. С. Осложнения фармакотерапии / І. С. Чекман. – Киев : Здоров'я, 1980. – 236 с.
10. Чекман І. С. Основные механизмы взаимодействия лекарственных средств / І. С. Чекман // Рецептурный справочник врача. – Киев : Здоров'я, 2003. – 1194 с.
11. Moseley J. N. Risk management: a European regulatory perspective / J. N. Moseley // Drug Saf. – 2014. – V. 27, № 8. – P. 499–508.
12. Про затвердження Порядку здійснення нагляду за побічними реакціями лікарських засобів, дозволених до медичного застосування: наказ МОЗ України від 27. 12.2006 № 898 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/z0073-07>
13. Кодекс України про адміністративні правопорушення: Закон від 07.12.1984 № 8073-Х [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/80731-10/page3>
14. Про лікарські засоби: Закон України від 04.04.1996 № 123/96-ВР [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80/paran271#n271>

О. В. Крайдашенко, І. Ф. Бєленічев, Р. В. Стець, Ю. А. Косогор, Л. М. Каптур, М. А. Аніщенко

Правове забезпечення фармаконагляду в Україні та шляхи його вдосконалення

У дослідженні охарактеризовано основні нормативно-правові акти, що регламентують здійснення фармаконагляду в Україні. Визначено найзначущі проблеми організації та правової регламентації фармаконагляду, питання притягнення до юридичної відповідальності осіб, що порушують законодавство в сфері фармаконагляду. Окреслено можливі шляхи вирішення основних проблем організації та здійснення фармаконагляду в Україні.

Основними заходами, спрямованими на вирішення проблем сучасного фармаконагляду в Україні, можуть бути: підвищення рівня медичних та юридичних знань пацієнтів, підвищення рівня їхньої правосвідомості; внесення до відповідних нормативно-правових актів норм щодо юридичної відповідальності за порушення вимог фармаконагляду; встановлення стимуляційних механізмів щодо заохочення дотримання законодавства в сфері фармаконагляду; розробка та внесення до відповідних законодавчих актів реальних механізмів захисту прав пацієнтів у разі виникнення непередбачених побічних реакцій.

Таким чином, масштаб проблеми непередбачених побічних реакцій і безпеки ліків визначає необхідність стратегічного її вирішення, яке можливе лише за активної участі як практикуючих лікарів, так і організаторів охорони здоров'я.

Ключові слова: фармаконагляд, лікарські засоби, побічна реакція, непередбачена побічна реакція

**О. В. Крайдашенко, И. Ф. Беленичев, Р. В. Стец, Ю. А. Косогор,
Л. М. Каптур, М. А. Анищенко**

Правовое обеспечение фармаконадзора в Украине и пути его совершенствования

В исследовании охарактеризованы основные нормативно-правовые акты, регламентирующие осуществление фармаконадзора в Украине. Определены наиболее значимые проблемы организации и правовой регламентации фармаконадзора, вопросы привлечения к юридической ответственности лиц, нарушающих законодательство в сфере фармаконадзора. Очерчены возможные пути решения основных проблем организации и осуществления фармаконадзора в Украине.

Основными мероприятиями, направленными на решение проблем современного фармаконадзора в Украине, могут быть: повышение медицинских и юридических знаний пациентов, повышение уровня их правосознания; внесение в соответствующие нормативно-правовые акты норм о юридической ответственности за нарушение требований фармаконадзора; разработка и внесение в соответствующие законодательные акты реальных механизмов защиты прав пациентов при возникновении непредвиденных побочных реакций.

Таким образом, масштаб проблемы непредвиденных побочных реакций и безопасности лекарств определяет необходимость ее стратегического разрешения, которое возможно лишь при активном участии практикующих врачей и организаторов здравоохранения.

Ключевые слова: фармаконадзор, лекарственные средства, побочная реакция, непредвиденная побочная реакция

**O. V. Kraydashenko, I. F. Belenichev, R. S. Stets, Y. A. Kosogor,
L. N. Kaptur, M. A. Anishchenko**

Legal support of pharmacovigilance in Ukraine and ways of its improvement

In this article, the main regulations for providing of pharmacovigilance in Ukraine were characterized. The most important problems of organization and legal regulation of pharmacovigilance were identified as issues of legal responsibility of persons, who violate the legislation in the pharmacovigilance's sphere. The main ways of solving the problems of organization and realization of pharmacovigilance in Ukraine are outlined.

The main measures aimed at resolving the problems of the modern pharmacovigilance in Ukraine, may be the following: an increase the medical and legal knowledge of patients, increase their level of legal awareness; implementation of rules on legal liability for violation of pharmacovigilance requirements; development and introduction into the relevant legislative acts of real mechanisms for protecting patient's rights in the events of unexpected adverse reactions.

Thus, scale of the problems of unexpected adverse reactions and the drug safety determine the need of their strategic solution, which is possible only with the active participation of both clinicians and health managers.

Key words: pharmacovigilance, drugs, adverse reaction, unexpected adverse reaction

Надійшла: 15 лютого 2017 р.

Контактна особа: Беленичев Ігор Федорович, професор, кафедра фармакології та медичної рецептури, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 61 224 64 69.

В. И. Мамчур¹, С. В. Налетов², Д. С. Носивец¹, В. Г. Гурьянов³,
В. И. Паламарчук⁴, А. Ж. Оголь⁵

Безопасность симптоматического лечения пациентов с болевым синдромом различного генеза комбинированным болеутоляющим средством «Фаниган»

¹Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия
Министерства здравоохранения Украины», г. Днепр

²Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького, г. ???

³Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев

⁴Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова

⁵Городская поликлиника № 1, г. Хмельницкий

*Ключевые слова: болевой синдром,
комбинированные нестероидные
противовоспалительные препараты,
парацетамол, диклофенак, Фаниган,
побочные реакции, безопасность*

Боль является основной медицинской проблемой, с которой сталкиваются врачи всех специальностей [1, 2]. Известно, что болеутоляющие препараты регулярно используют в своей работе более 80 % врачей различных специальностей [3]. Ввиду исключительной важности проблемы безопасного обезболивания во всем мире, включая высококоразвитые и отстающие в экономическом и социальном отношении страны, ВОЗ разработаны «Руководящие принципы по лечению боли». Другим доказательством важности проблемы боли в аспекте ее эффективного лечения стал тот факт, что на сегодняшний день во всем мире обезболивание рассматривается в качестве одного из фундаментальных прав человека, к которым, как известно, также относится и право человека на жизнь [1–5].

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) – важнейший инструмент контроля острой и хронической боли, связанной с повреждением и воспалением. Поскольку безопасная анальгезия входит в число принципиальных задач терапии при самых различных нозологических формах, эти лекарственные средства (ЛС)

используются чрезвычайно широко [3]. Это связано с уникальным сочетанием противовоспалительных, анальгетических, жаропонижающих и антитромботических свойств, перекрывающих почти весь спектр основных симптомов, наиболее характерных для заболеваний ревматической природы [6].

В клинической практике для купирования болевого синдрома наиболее широко используются НПВП в виде моно- и комбинированных препаратов. Популярность комбинированных ЛС связана с удобством применения, что способствует соблюдению больным медикаментозного режима, повышению эффективности лечения и делает невозможным изменение дозы одного или более компонентов комбинированной формы. Однако, несмотря на многогранную востребованность НПВП, важным фактором, способствующим их ограниченному применению, является частота побочных реакций (ПР). Поэтому важной является оценка клинической безопасности препаратов данной группы [6–10].

Цель исследования – изучение безопасности применения комбинированного ЛС таблеток «Фаниган» (Фаниган) (парацетамол 500 мг и диклофенак натрия 50 мг) производства ООО «КусумФарм» (Украина) при симптоматическом лечении пациентов с болевым синдромом.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 1548 пациентов в

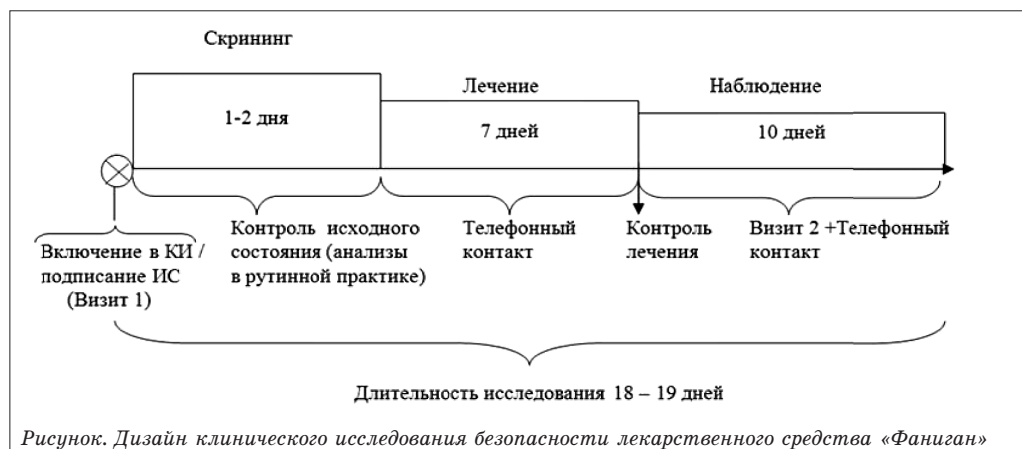
возрасте от 18 до 92 лет, которым был показан кратковременный курс обезболивающей симптоматической терапии по поводу болевого синдрома (острого и рецидива хронической боли). Данное исследование проводилось как наблюдательное (неинтервенционное), открытое, несравнительное, в котором Фаниган назначали по 1 таблетке 2–3 раза в 1 сутки в течение 3–7 дней в соответствии с зарегистрированными показаниями (рисунок).

Исследование выполняли в соответствии с требованиями, предъявляемыми действующим законодательством Украины, и этическими принципами Хельсинской Декларации, ICH GCP. Исследование на каждой клинической базе проводили после одобрения протокола клинического исследования Комиссией по вопросам этики при соответствующем учреждении (протокол об утверждении клинического исследования № 00132/2012). Все больные, отобранные для клинического исследования, добровольно давали письменное информированное согласие на участие в исследовании, а также на обработку их персональных и клинико-лабораторно-анамнестических данных.

Пациенты соответствовали необходимым критериям для их включения в исследование: пациенты мужского и женского пола в возрасте от 18 лет и старше с болевым синдромом различного генеза, которым показан кратковременный курс обезболивающих ЛС; оценка боли по шкале ВАШ от 5 до 7 баллов). Критерии исключения из

исследования – гиперчувствительность к диклофенаку, парацетамолу или любому другому компоненту ЛС; острая язва желудка или кишечника; гастроинтестинальное кровотечение или перфорация; тяжелая печеночная недостаточность (класс С по Чайлд-Пью, цирроз или асцит); тяжелая почечная недостаточность (клиренс креатинина < 30 мл/мин); тяжелая сердечная недостаточность (СН III–IV); пациенты, у которых в ответ на применение диклофенака, парацетамола, ацетилсалициловой кислоты или других НПВС возникают приступы бронхиальной астмы («аспириновая астма»), крапивница или острый ринит, полипы носа и другие аллергические симптомы; нарушение кроветворения неустановленного генеза; лейкопения; анемия средней и тяжелой степени; врожденная гипербилирубинемия; дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы; воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона или язвенный колит); алкоголизм; лечение послеоперационной боли после операции коронарного шунтирования (или использования аппарата искусственного кровообращения).

Оценку безопасности применения Фанигана проводили на основании данных о ПР, зафиксированных в «Дневнике пациента» и «Дневнике врача», и изучения результатов общего (ОАК) и биохимического анализов крови (БАК), которые проводили и оценивали общепринятыми методами, приведенными в руководствах по гематологии и лабораторным исследованиям (в системе СИ).



Каждый случай возникновения ПР у пациента с болевым синдромом, который принял хотя бы одну дозу Фанигана в соответствии с протоколом исследования, оценивался исследователем по степени тяжести, серьезности, предвиденности, степени достоверности причинно-следственной связи с исследуемым препаратом, дню появления ПР, длительности ПР и мере коррекции ПР (отмена препарата, коррекция дозы, применение лечебных или других мероприятий с целью купирования проявлений ПР). Также по формуле, приведенной ниже, рассчитывали показатель «Частота ПР», анализировались гендерные и возрастные особенности ПР.

$$\text{Частота побочных реакций (ЧПР)} = \frac{\text{количество случаев ПР}}{\text{экспозиция пациентов}} \cdot 100 \%$$

Определенные клинические симптомы или синдромы и/или не соответствующие норме лабораторные показатели, которые наблюдали до начала исследования, не были расценены как ПР (если в ходе исследования они не изменялись в худшую сторону и при этом была установлена причинно-следственная связь I–III степени достоверности между этими изменениями и применением Фанигана).

Статистический анализ результатов исследования проводили в авторском пакете MedStat (Ю. Е. Лях, В. Г. Гурьянов, 2004–2013 гг.) и статистическом пакете анализа MedCalc v.15.10.0 (MedCalcSoftWarebvba, 1993–2015 гг.). Для представления количественных показателей рассчитывали среднее значение ($\bar{X}$) и стандартную ошибку ($\pm m$), для качественных показателей – частоту проявления (%) и стандартную ошибку ($\pm m$ %). Для оценки риска рассчитывали 95 % доверительный интервал (95 % ДИ) показателя [11, 12].

Результаты и их обсуждение. Как показал анализ полученных результатов (до лечения), патологические отклонения в ОАК были выявлены в 27,6 % случаев. К ним относились изменения уровня гемоглобина (понижение), количества эритроцитов (понижение) и/или лейкоцитов (понижение или повыше-

ние), а также увеличение СОЭ. После проведенного лечения количество пациентов, у которых были выявлены патологические отклонения в ОАК, уменьшилось до 20,9 % случаев. Относительно БАК, в данном исследовании до лечения патологическое отклонение (повышение уровня АлАТ, АсАТ) было выявлено в 1,6 % случаев. После окончания приема препарата патологические отклонения в БАК оставались, но стали менее выраженными у трети (0,6 % случаев) тех пациентов, которые имели их до начала приема препарата.

Таким образом, полученные результаты лабораторных методов обследования (ОАК и БАК) продемонстрировали отсутствие токсического влияния Фанигана на почки, печень и систему крови.

Данные о спектре ПР у пациентов с болевым синдромом различного генеза данной выборки ($n = 1548$), которые возникли на фоне терапии с использованием Фанигана, представлены в таблице 1.

В результате проведенного исследования установлено, что ПР возникли у 37 (2,4 % 95 % ДИ 1,7–3,2 %) из 1548 пациентов с болевым синдромом, которые использовали Фаниган.

Каждый случай ПР у пациентов с болевым синдромом, которые принимали Фаниган, был проанализирован относительно выявления и установления степени причинно-следственной связи (ПСС) между приемом исследуемого ЛС и ПР. Установлено, что преимущественно, а именно в 67,6 % ($n = 25$) случаев, ПСС между приемом ЛС Фаниган и развитием ПР была вероятной (II). В 21,6 % случаев ($n = 8$) ПСС между приемом Фанигана и развитием ПР была возможной (III). Сомнительной (IV) и условной (V) ПСС между приемом Фанигана и развитием ПР была в 8,1 % ($n = 3$) и 2,7 % ($n = 1$) случаев соответственно.

Изучение спектра ПР, которые возникли у пациентов с болевым синдромом на фоне терапии с использованием Фанигана, в зависимости от клинических проявлений (табл. 1) показало, что наиболее часто в данной выборке пациентов с болевым синдромом раз-

Таблица 1

Спектр побочных реакций, которые возникли у пациентов с болевым синдромом данной выборки (n = 1548) на фоне терапии с использованием лекарственного средства «Фаниган»

Побочная реакция	Количество пациентов
	абс. (% $\pm$ m %)
Со стороны сердечно-сосудистой системы	
Повышение артериального давления	1 (0,1 $\pm$ 0,1)
Со стороны нервной системы	
Головокружение	3 (0,2 $\pm$ 0,1)
Со стороны пищеварительного тракта	
Боль в эпигастрии	3 (0,2 $\pm$ 0,1)
Боль в желудке	3 (0,2 $\pm$ 0,1)
Диспепсия (изжога, дискомфорт в эпигастральной области)	21 (1,4 $\pm$ 0,3)
Тошнота	5 (0,3 $\pm$ 0,1)
Со стороны кожи	
Эритема кожи	1 (0,1 $\pm$ 0,1)
Всего	37 (2,4 $\pm$ 0,4)

личного генеза, которые приняли хотя бы 1 дозу Фанигана и строго придерживались протокола исследования (n = 1548), развивались нарушения со стороны ЖКТ в виде диспепсии (1,4 $\pm$ 0,3) %, тошноты (0,3 $\pm$ 0,1) %, болей в эпигастрии (0,2 $\pm$ 0,1) %, болей в желудке (0,2 $\pm$ 0,1) % и нарушения со стороны нервной системы, а именно головокружение (0,2 $\pm$ 0,1) %, со стороны сердечно-сосудистой системы в виде подъема артериального давления (0,1 $\pm$ 0,1) % и ПР со стороны кожи в виде эритемы (0,1 $\pm$ 0,1) %).

Анализ спектра ПР, которые возникли у пациентов с болевым синдромом на фоне терапии с использованием Фанигана, в зависимости от дня появления и необходимости прекращения терапии исследуемым ЛС показал, что ПР возникали в любой день приема Фанигана, начиная с первого дня. У 3 (0,19 % (95 % ДИ 0,04–0,47 %) пациентов появление ПР повлекло за собой отмену препарата. Длительность клинических проявлений ПР у пациентов данной выборки варьировала от 1 до 7 дней (в среднем 1,9 $\pm$ 0,2) дня), а степень тяжести ПР – от 1 до 3 баллов (в среднем 1,4 $\pm$ 0,1) балла).

Анализ зависимости между принятым количеством таблеток Фанигана и возникновением ПР показал, что в

большинстве случаев 70,3 % (n = 26) пациенты принимали по 1 таблетке 2 раза в 1 сутки.

Все ПР, которые возникли у пациентов с болевым синдромом на фоне терапии боли, были предвиденными, поскольку о вероятности их возникновения указано в инструкции для медицинского применения Фанигана. Все возникшие ПР были несерьезными, поскольку они не стали причиной смерти, госпитализации пациента или ее продления, не угрожали жизни, нетрудоспособности, аномальному развитию плода или новообразованиями (табл. 2).

Анализ степени тяжести возникших ПР показал, что 26 случаев ПР были легкой степени тяжести; 7 – умеренной и 4 – тяжелой степени тяжести (табл. 3).

Изучение ПР, которые возникли у пациентов с болевым синдромом на фоне терапии Фаниганом, в зависимости от пола продемонстрировало, что преимущественно, в 81,1 % случаев, ПР возникали у женщин, средний возраст которых составил (57,3 $\pm$ 2,2) лет. Не исключено, что это обусловлено преобладанием количества пациентов женского пола в исследовании (70,2 %).

При проведении анализа соотношения Польза/Риск для оцениваемой вторичной точки благоприятного эффекта (снижение уровня боли через 1 ч после

Таблица 2

Характеристика спектра побочных реакций, которые возникли у пациентов с болевым синдромом на фоне терапии с использованием лекарственного средства «Фаниган» в зависимости от критериев серьезности и предвиденности

Вид побочных реакций	Количество пациентов	Возраст $\bar{X} \pm m$	Пол	
			женский	мужской
	абс. (%)	лет	абс. (%)	абс. (%)
Серьезные предвиденные	–	–	–	–
Серьезные непредвиденные	–	–	–	–
Несерьезные предвиденные	37 (100)	57,5 ± 2,1	30 (100)	7 (100)
Несерьезные непредвиденные	–	–	–	–
Всего	37 (100)	57,5 ± 2,1	30 (100)	7 (100)

Таблица 3

Характеристика спектра побочных реакций, которые возникли у пациентов с болевым синдромом на фоне терапии с использованием лекарственного средства «Фаниган» в зависимости от степени тяжести

Вид побочных реакций	Количество пациентов	Возраст $\bar{X} \pm m$	Пол	
			женский	мужской
	абс. (%)	лет	абс. (%)	абс. (%)
Очень тяжелые (4 балла)	–	–	–	–
Тяжелые (3 балла)	4 (10,8)	62,8 ± 3,8	3 (10)	1 (14,3)
Умеренные (2 балла)	7 (18,9)	53,3 ± 4,0	5 (16,7)	2 (28,6)
Легкие (1 балл)	26 (70,3)	57,9 ± 2,5	22 (73,3)	4 (57,1)
Всего	37 (100)	57,5 ± 2,1	30 (100)	7 (100)

приема ЛС) к возникновению ПР установлено значение показателя $BR = \text{Польза (\%)/Риск (\%)}$, который составил $BR = 40,0$ (95 % ДИ 26,0–54,0 %).

Таким образом установлено, что на каждый 1 % возникновения риска ПР, в среднем на 40 % увеличивается вероятность достижения положительного эффекта (уменьшения боли).

Выводы

1. Комбинированное болеутоляющее средство Фаниган (ООО «Кусум-Фарм», Украина) безопасно при применении у пациентов с болевым синдромом различного генеза в суточной дозе от 2 до 3 таблеток на протяжении 3–7 дней.

2. Использование Фанигана от 2 до 3 таблеток в течение 7 дней при лечении болевого синдрома различного генеза не оказывало негативного влияния на гематологические и биохимические лабораторные показатели, которые можно было бы расценить как токсическое воздействие на печень и систему крови. Применение Фанигана у пациентов с болевым синдромом различного генеза данной выборки ($n = 1548$) лишь в 2,4 % (95 % ДИ 1,7–3,2 %) случаев сопровождалось появлением предвиденных несерьезных ПР, которые лишь в 0,19 % (95 % ДИ 0,04–0,47 %) случаев потребовали отмену препарата.

1. Brennan F. Pain management: a fundamental human right / F. Brennan, D. B. Carr, M. Cousins // *AnesthAnalg.* – 2007. – V. 105 (1). – P. 205–221.
2. Hall J. K. Ethics, law, and pain management as a patient right / J. K. Hall, M. V. Boswell // *Pain Physician.* – 2009. – V. 12 (3). – P. 499–506.
3. Клінічна фармакологія; за ред. О. Я. Бабака, О. М. Біловола, І. С. Чекмана. – Київ : Медицина, 2008. – 768 с.

4. Gwyther L. Advancing palliative care as a human right / L. Gwyther, F. Brennan, R. Harding // J. Pain Symptom Manage. – 2009. – V. 38 (5). – P. 767–774.
5. Fishman S. M. Recognizing pain management as a human right: a first step / S. M. Fishman // Anesth Analg. – 2007. – V. 105 (1). – P. 8–9.
6. Variability in risk of gastrointestinal complications with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs: results of a collaborative meta-analysis / D. Henry, L. L.-Y. Lim, L. A. G. Rodriguez [et al.] // BMJ. – 1996. – V. 312. – P. 1563–1566.
7. Каратаев А. Е. Применение парацетамола при лечении острой и хронической боли: сравнительная эффективность и безопасность / А. Е. Каратаев // РМЖ. – 2016. – № 26. – С. 14–18.
8. Беловол А. Н. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов в терапевтической практике / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Ліки України. – 2007. – № 115–116. – С. 14–20.
9. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: Клин. рекомендации / Е. Л. Насонов, Л. Б. Лазебник, В. Ю. Мареев [и др.]. – Москва, 2006. – 120 с.
10. Singh G. Gastrointestinal complication of prescription and over-the-counter nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a view from the ARAMIS database / G. Singh // Am J Ther. – 2000. – V. 7. – P. 115–121.
11. Петри А. Наглядная статистика в медицине ; пер. с англ. В. П. Леонова / А. Петри, К. Сэбин. – Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 144 с.
12. Лях Ю. Е. Математическое моделирование при решении задач классификации в биомедицине / Ю. Е. Лях, В. Г. Гурьянов // Укр. журн. телемедицини та медичної телематики. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 69–76.

В. И. Мамчур, С. В. Налетов, Д. С. Носивец, В. Г. Гурьянов, В. И. Паламарчук, А. Ж. Оголь

Безопасность симптоматического лечения пациентов с болевым синдромом различного генеза комбинированным болеутоляющим средством «Фаниган»

Цель исследования – изучение безопасности применения комбинированного лекарственного средства таблеток «Фаниган» (парацетамол 500 мг и диклофенак натрия 50 мг) производства ООО «КусумФарм» (Украина) при симптоматическом лечении пациентов с болевым синдромом.

В исследовании приняли участие 1548 пациентов в возрасте от 18 до 92 лет, которым был показан кратковременный курс обезболивающей симптоматической терапии по поводу болевого синдрома (острого и рецидива хронической боли). Данное исследование проводилось как наблюдательное (неинтервенционное), открытое, несравнительное, в котором препарат «Фаниган» назначали по 1 таблетке 2–3 раза в 1 сут в течение 3–7 дней в соответствии с зарегистрированными показаниями.

На основании проведенного исследования установлено, что использование препарата от 2 до 3 таблеток в течение 7 дней при лечении болевого синдрома различного генеза не оказывает негативного влияния на гематологические и биохимические показатели крови пациентов. Выявлено, что применение препарата «Фаниган» у пациентов с болевым синдромом различного генеза только в 2,4 % случаев сопровождалось появлением предвиденных несерьезных побочных реакций, которые лишь в 0,19 % случаев потребовали отмену препарата. Полученные данные о клинической безопасности применения препарата «Фаниган» при лечении пациентов с болевым синдромом различного генеза позволяют рекомендовать его для применения в широкой клинической практике.

Ключевые слова: болевой синдром, комбинированные нестероидные противовоспалительные препараты, парацетамол, диклофенак, Фаниган, побочные реакции, безопасность

В. Й. Мамчур, С. В. Нальотов, Д. С. Носівець, В. Г. Гурьянов, В. І. Паламарчук, А. Ж. Оголь

Безпека симптоматичного лікування пацієнтів з болевим синдромом різного генезу комбінованим болезаспокійливим засобом «Фаніган»

Мета дослідження – вивчення безпеки застосування комбінованого лікарського засобу таблеток «Фаніган» (парацетамол 500 мг і диклофенак натрію 50 мг) виробництва ТОВ «КусумФарм» (Україна) при симптоматичному лікуванні пацієнтів з болевим синдромом.

У дослідженні взяли участь 1548 пацієнтів у віці від 18 до 92 років, яким був показаний короткотривалий курс знеболювальної симптоматичної терапії з приводу болювого синдрому (гострого та рецидиву хронічного болю). Дане дослідження проводилося як наглядове (неінтервенційне), відкрите, непорівняльне, в якому препарат «Фаніган» призначали по 1 таблетці 2–3 рази на 1 добу протягом 3–7 днів згідно з зареєстрованими показаннями.

На підставі даного дослідження встановлено, що використання препарату від 2 до 3 таблеток протягом 7 днів при лікуванні болювого синдрому різного генезу не чинить негативного впливу на гематологічні та біохімічні показники крові пацієнтів. Виявлено, що застосування препарату «Фаніган» у пацієнтів з болевим синдромом різного генезу лише в 2,4 % випадках супроводжувалося

появою передбачених несерйозних побічних реакцій, які лише в 0,19 % випадків вимагали відміну препарату. Отримані дані щодо клінічної безпеки застосування препарату «Фаніган» при лікуванні пацієнтів з больовим синдромом різного генезу дозволяють рекомендувати його для застосування в широкій клінічній практиці.

Ключові слова: больовий синдром, комбіновані нестероїдні протизапальні засоби, парацетамол, диклофенак, Фаніган, побічні реакції, безпечність

V. Y. Mamchur, S. V. Nalotov, D. S. Nosivets, V. G. Guryanov, V. I. Palamarchuk, A. J. Ogor

Safety of the symptomatic treatment of patients with pain syndrome of various genesis by combined analgetic drug «Fanigan»

The aim of the study was evaluation the safety of the combined drug Fanigan (paracetamol 500 mg and diclofenac sodium 50 mg) production of «Kusum Pharm» (Ukraine), tablets for symptomatic treatment of patients with pain syndrome.

The study included 1548 patients aged 18 to 92 years who have been indicated a short-term course of pain symptom management for pain syndrome (acute and relapse of chronic pain). This study was conducted as an observation (no intervention), open, no comparative in which the drug Fanigan was prescribed 1 tablet 2–3 times a day for 3–7 days in accordance with the registered indications.

On the basis of the conducted research it is established that the use of a drug 2 to 3 tablets for 7 days in the treatment of pain syndrome of various genesis has no negative impact on hematological and biochemical parameters of patients blood. It is revealed that the application of the drug Fanigan in patients with pain syndrome of various genesis only in 2,4 % of cases was accompanied by the appearance of foreseen non-serious side effects that only in 0,19 % of cases required the withdrawal of the drug. The data obtained as to the clinical safety of the drug Fanigan in the treatment of patients with pain syndrome of various genesis allow to recommend it for application in wide clinical practice.

Key words: pain syndrome, combined NSAIDs, paracetamol, diclofenac, Fanigan, side effects, safety

Надійшла: 8 лютого 2017 р.

Контактна особа: Носівець Дмитро Сергійович, кандидат медичних наук, кафедра фармакології та клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. Севастопольська, буд. 17, м. Дніпро, 49000. Тел.: + 38 0 67 739 91 17.
Електронна пошта: dsnosivets@ukr.net

А. М. Машейко, О. В. Макаренко, В. В. Маврутенков

Експертна оцінка системної антибактеріальної хіміотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту в дітей

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

Ключові слова: експертна оцінка, системна антибактеріальна хіміотерапія, гострий стрептококовий тонзилофарингіт

Тонзилофарингіт є одним з найпоширеніших захворювань верхніх дихальних шляхів у дітей. За даними літератури, у дитячій популяції більш розповсюдженим є гострий тонзилофарингіт, у той час як серед дорослого населення – рецидивуючий. Рецидивуючий перебіг захворювання зумовлений численними випадками неправильно пролікованого гострого тонзилофарингіту [1], тому стандартизація фармакотерапії є необхідною умовою для надання якісної медичної допомоги хворим з зазначеною нозологією.

Національним протоколом надання медичної допомоги хворим на гострий стрептококовий тонзилофарингіт передбачено застосування пеніцилінів, «захищених» пеніцилінів, цефалоспоринів 1-го та 3-го покоління та макролідів [2]. Водночас Державний формуляр лікарських засобів рекомендує при катаральному тонзилофарингіті застосовувати протизапальні засоби (флурбіпрофен та інші), а при фолікулярній та лакунарній формах – призначати системну антибактеріальну хіміотерапію засобами групи β -лактамів (пеніцилінів, цефалоспоринів 1-го і 2-го покоління), макролідів та тетрациклінів [3].

Варто зауважити, що перелік протимікробних засобів для системної хіміотерапії, що запропонований Національними стандартами лікування гострого тонзилофарингіту, не поділений на препарати першого та другого вибору, а тому лікарі мають право емпірично призначити будь-який антибактеріальний засіб, у тому числі й широкого спектра дії, хворим на запалення

лімфаденоїдної тканини та слизової оболонки глотки. Отже, через відсутність чітко окреслених директив для лікування зазначеної нозології фармакотерапія гострого тонзилофарингіту базується на суб'єктивних переконаннях лікаря.

Мета дослідження – експертна оцінка антибактеріальних препаратів для системної хіміотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту (наявних у Національному протоколі лікування та Державному формулярі лікарських засобів) та вибір найраціональніших з точки зору їхньої клінічної ефективності, безпечності та відповідності принципам доказової медицини для включення у формулярний та страховий переліки.

Матеріали та методи. У дослідженні був використаний метод експертних оцінок, що полягав у зборі інформації шляхом опитування експертів та зведенні індивідуальних думок експертів у загальну концепцію [4]. Експертами були 52 лікарі-спеціалісти (педіатри, дитячі отоларингологи, інфекціоністи), які працюють у медичних закладах Дніпропетровської, Київської, Тернопільської, Миколаївської, Чернівецької та Черкаської областей.

Методика експертної оцінки включала наступні етапи: розробку анкети; опитування експертів методом аналітичних записок; відбір анкет з урахуванням розрахованого коефіцієнта компетентності; зведення матеріалів експертизи; розрахунок статистичних показників; інтерпретацію отриманих результатів та формулювання висновків [5].

Анкета, що була інструментом експертної оцінки, складалася з трьох

частин: кваліфікаційної, інформаційної та експертної. Кваліфікаційна частина анкети містила питання, що визначали компетентність експерта (лікарська спеціальність; місце знаходження та назва установи, в якій працює експерт; стаж роботи; кваліфікаційна категорія; учений ступінь). Інформаційну частину анкети формував блок закритих питань, які стосувалися тактики ведення хворих з підозрою на гострий стрептококовий тонзилофарингіт, джерел отримання інформації при виборі лікарських засобів та факторів, що можуть вплинути на вибір препарату. Експертна частина анкети була у вигляді таблиці з переліком 21 найменування лікарських засобів, які оцінювались експертами за їхньою клінічною ефективністю, безпечністю та частотою призначення. Номенклатуру лікарських засобів, що були включені до анкети, складали антибактеріальні засоби для системного застосування (J01). Вибір препаратів для експертної оцінки ґрунтувався на основі протоколу надання медичної допомоги хворим на гострий тонзилофарингіт МОЗ України [2], Державного формуляра лікарських засобів [3], клінічних рекомендацій Європейського товариства клінічної мікробіології та інфекційних захворювань (ESCMID) [6] та Американського товариства з інфекційних хвороб (IDSA) [7].

Результати та їх обговорення. На першому етапі дослідження були проаналізовані професійні дані залучених експертів шляхом розрахунку коефіцієнта компетентності (K_k) за формулою, розробленою на основі даних авторів, що проводили відбір експертів для оцінки лікарських засобів [9, 14]:

$$K_k = \frac{K_d + K_{kv} + K_n}{9},$$

де K_k – коефіцієнт компетентності експерта; K_d – показник набутого досвіду, бал; K_{kv} – показник кваліфікаційного рівня, бал; K_n – показник наукового авторитету, бал; 9 – максимально можливий рівень компетентності експерта, бал.

K_d залежав від стажу роботи експерта: стаж роботи до 3 років – $K_d = 0$ балів; стаж роботи від 3 до 5 років – $K_d = 1$ бал; стаж роботи від 5 до 10 років – $K_d = 2$ бали; стаж роботи від 10 до 15 років – $K_d = 3$ бали; стаж роботи понад 15 років – $K_d = 4$ бали.

K_{kv} залежав від наявності в експерта кваліфікаційної категорії: відсутність категорії – $K_{kv} = 0$ балів; друга категорія – $K_{kv} = 1$ бал; перша категорія – $K_{kv} = 2$ бали; вища категорія – $K_{kv} = 3$ бали.

K_n залежав від наявності в експерта вченого ступеня: відсутність вченого ступеня – $K_n = 0$ балів; кандидат наук – $K_n = 1$ бал; доктор наук – $K_n = 2$ бали.

K_k експертів визначали за наступною шкалою: низька компетентність – K_k від 0 до 0,4; достатня компетентність – K_k від 0,41 до 0,69; висока компетентність – K_k від 0,7 до 1,0.

За результатами розрахунків до групи експертів з високою та достатньою компетентністю увійшло 44 та 29 % від загальної сукупності респондентів відповідно. Групу експертів з низьким рівнем компетентності склали 27 % опитаних. Для подальшого дослідження було відібрано 38 анкет експертів з достатньою та високою компетентністю (73 % від загальної кількості анкет). Кваліфікаційну характеристику відібраних експертів наведено в таблиці 1.

Для перевірки репрезентативності отриманої вибірки використовували рекомендації О. С. Вентцель, згідно з якими для визначення мінімальної кількості експертів у медичних наукових дослідженнях доцільно застосувати граничну помилку $\Delta = 0,5-0,3$ з довірчою вірогідністю 90–95 %. Так, при граничній помилці $\Delta = 0,3$ та довірчій вірогідності 90 % табличне значення мінімальної кількості експертів, розраховане О. С. Вентцель, становить 31. Отже, отриману нами вибірку експертів у кількості 38 осіб можна вважати репрезентативною для проведення експертної оцінки [8, 9].

Наступним етапом дослідження було вивчення тактики ведення хворих на гострий стрептококовий тонзилофарингіт. Так, 60 % лікарів-експертів вважають негайне емпіричне призначення системних антибактеріальних хіміопре-

Кваліфікаційна характеристика відібраних експертів

Критерій	Кількість експертів	
	абсолютний показник	відносний показник, %
Лікарська спеціальність: отоларингологія, інфекційні хвороби, педіатрія	25	66
	5	13
	8	21
Стаж роботи: понад 15 років, від 10 до 15 років	25	66
	13	34
Кваліфікаційна категорія: вища, перша, друга	26	68
	7	18
	5	13
Учений ступінь: доктор наук, кандидат наук, немає вченого ступеня	3	8
	7	18
	28	74
Загалом	38	100

паратів, спираючись на клінічну оцінку стану хворого, найправильнішою тактикою ведення пацієнтів з підозрою на гострий стрептококовий тонзилофарингіт. Третина експертів віддали перевагу використанню експрес-тестів для ідентифікації збудника захворювання з наступним раннім початком системної антибактеріальної хіміотерапії, решта 10 % експертів зазначили, що призначати антибактеріальні препарати потрібно лише після отримання результатів культурального дослідження. Отже, 40 % опитаних лікарів-експертів вважають за необхідне перед призначенням системної етіотропної хіміотерапії проводити ідентифікацію збудника гострого тонзилофарингіту. З одного боку, зазначена тактика призводить до підвищення собівартості медичних послуг, а з іншого, дозволяє зменшити витрати на необ-

ґрунтовану антибіотикотерапію та боротьбу з бактеріальною резистентністю до антибіотиків.

При виборі схеми лікування гострого стрептококового тонзилофарингіту переважна більшість лікарів-експертів керується протоколами надання медичної допомоги МОЗ України та Європейськими клінічними рекомендаціями. Меншість опитаних експертів користуються Державним формуляром лікарських засобів, наслідують традиції лікування, що були вироблені в медичних закладах, де вони працюють, та використовують інформацію, що отримали на курсах підвищення лікарської кваліфікації. Результати анкетування щодо пріоритетності джерел інформації у виборі схеми лікування гострого тонзилофарингіту наведено на рисунку.



Таким чином, лікарі в своїй практичній діяльності можуть використовувати як допоміжний матеріал клінічні рекомендації країн Європейського Союзу, інформаційні листи Укрмедпатентінформ та досвід колег-експертів. Однак протоколи МОЗ України залишаються єдиною правовою директивою надання медичної допомоги, а тому вкрай важливо, щоб цей нормативний документ об'єднав дані доказової медицини та здобутки вітчизняної медичної науки й практики.

Третім етапом дослідження було проведення експертної оцінки лікарських засобів для системної антибактеріальної хіміотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту в дітей та підлітків 5–15 років. Експертну оцінку проводили за 4-бальною шкалою та критеріями, що зазначені в таблиці 2.

Результати експертної оцінки лікарських засобів аналізували шляхом розрахунку середньозваженого бала за формулою [10]:

$$\bar{R} = \frac{\sum_{j=1}^m R_j f_j}{\sum_{j=1}^m f_j},$$

де $\bar{R}$ – середньозважений бал оцінки лікарського засобу; R_j – ранг (бали, що виставили експерти); f_j – число експертів, що виставили певну кількість балів.

Для ранжування лікарських засобів на групи щодо доцільності включення до формулярних та страхових переліків використовували наступну шкалу: висока доцільність включення – $\bar{R}$ від 13,26 до 14,47; достатня доцільність включення – $\bar{R}$ від 11,59 до 13,26; низька доцільність включення – від 10,15 до 11,59; препарат включати не доцільно – $\bar{R}$ від 7,27 до 10,07.

Так, до групи препаратів з високою доцільністю включення до формулярних та страхових переліків віднесено амоксицилін, «захищений» клавулановою кислотою, цефуроксим, амоксицилін, цефалексин та кларитроміцин.

Однак, слід зауважити, що використання амоксициліну з клавулановою кислотою доцільно лише у випадках рецидивуючого гострого тонзилофарингіту або його ускладнень, оскільки відомо, що *S.pyogenes* формує резистентність не через утворення ферменту β -лактамази, а за рахунок активного виведення антибіотика з мікробної клітини (ефлюксу). Такий механізм резистентності задокументований для 14- та 15-членних макролідів. Таким чином, *S.pyogenes* відрізняється повною чутливістю до пеніцилінів і цефалоспоринів та тенденцією до формування стійкості до 14- і 15-членних макролідів [11].

Групи препаратів з низькою та достатньою доцільністю включення до вищезазначених переліків сформовані переважно з антибактеріальних засобів

Таблиця 2

Критерії експертної оцінки лікарських засобів

Клінічна ефективність	Безпечність	Частота призначення
Препарат високоефективний (4 бали)	Препарат безпечний: відсутня необхідність відміни препарату, небажані реакції зникають самостійно з плином часу (4 бали)	Призначаю часто (4 бали)
Препарат достатньо ефективний (3 бали)	Відносно безпечний: небажані реакції вимагають відміни препарату (3 бали)	Призначаю помірно (3 бали)
Препарат мало-ефективний (2 бали)	Препарат сумнівно безпечний: небажані реакції вимагають проведення спеціального лікування (2 бали)	Призначаю рідко (2 бали)
Препарат не ефективний (1 бал)	Препарат небезпечний: загроза життю, ризик інвалідизації, подовження терміну госпіталізації (1 бал)	Не призначаю (1 бал)

системної хіміотерапії широкого спектра дії.

До групи препаратів, що за результатами розрахунків отримали найнижчий середньозважений бал, увійшли 4 засоби з найменшим кредитом довіри лікарів-експертів. Результати ранжування надано в таблиці 3.

У зв'язку з тим, що результатом експертної оцінки є бали, їхній статистичний аналіз проводили ранговим (непараметричним) методом визначення ступеня узгодженості думок експертів за коефіцієнтом конкордації Кендалла [12]:

$$W = \frac{12S}{m^2(n^3 - n)},$$

де W – коефіцієнт конкордації Кендалла; m – кількість експертів; n – число об'єктів, що оцінюються (кількість лікарських засобів); S – сума квадратів відхилень між сумою оцінок кожного об'єкта та середньої суми оцінок.

Числове значення коефіцієнта конкордації Кендалла лежить у діапазоні від 0 до 1, і експертна оцінка вважається узгодженою та надійною, коли $W \geq 0,5$.

$$W = \frac{12 \cdot 632145}{38^2(21^3 - 21)} = 0,57.$$

Як видно з величини коефіцієнта конкордації $W = 0,57$, думки експертів щодо вибору лікарських засобів для лікування гострого тонзилофарингіту є достатньо узгодженими.

Для оцінки значимості отриманого коефіцієнта конкордації розраховували критерій [13]:

$$\chi^2 = m(n-1) \cdot W = 38(21-1) \cdot 0,57 = 433,2.$$

Розраховане значення χ^2 дорівнює 433,2, що вище табличного значення $\chi^2_{кр} = 37,566$ для рівня значимості $\alpha = 0,01$ та числа ступенів свободи $df = 20$ [15]. Таким чином, з вірогідністю 99 % можна стверджувати, що існує не випадкова погодженість думок опитаних 38 експертів відносно частоти призначення, ефективності та безпечності 21 лікарського засобу для системної антибактеріальної хіміотерапії гострого

стрептококового тонзилофарингіту в дітей.

Для визначення ступеня однорідності думок експертів був розрахований коефіцієнт варіації [12]:

$$V = \frac{\sigma}{\bar{X}} \cdot 100\%,$$

де V – коефіцієнт варіації; σ – середнє квадратичне відхилення; $\bar{X}$ – середнє арифметичне значення балів експертної оцінки.

Чим менше значення V , тим вище ступінь узгодженості думок експертів. Прийнятним є значення коефіцієнта варіації не більше ніж 30 % [12]. За результатами розрахунків коефіцієнт варіації оцінок експертів становив 28,23 %, що свідчить про узгодженість та однорідність результатів експертної оцінки.

Таким чином, методом експертних оцінок було визначено перелік найраціональніших антибактеріальних препаратів для системної хіміотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту з точки зору їхньої клінічної ефективності, безпечності та відповідності принципам доказової медицини. Подальші дослідження вважаємо за доцільне спрямувати на проведення фармакоекономічного аналізу «мінімізація витрат» та «витрати-ефективність» при використанні різних схем фармакотерапії.

Висновки

1. Національним протоколом лікування гострого тонзилофарингіту та Державним формуляром лікарських засобів не передбачено розподілення номенклатури протимікробних засобів системної хіміотерапії на препарати першого та другого вибору, що сприяє емпіричному та хаотичному призначенню цих засобів.
2. Майже половина опитаних лікарів-експертів відзначили необхідність проведення ідентифікації збудника гострого тонзилофарингіту перед призначенням системної антибактеріальної хіміотерапії.
3. За підсумками розрахунків середньозваженої бальної оцінки 21 системного антибактеріального засобу (J01) для

Ранжування лікарських засобів для фармакотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту за показником середньозваженого бала

№	Назва лікарського засобу	Середньо-зважений бал ($\bar{R}$)	Доцільність включення лікарського засобу до формулярних та страхових переліків
1	Амоксицилін + кислота клавуланова, таблетки або порошок для оральної суспензії або порошок для розчину для ін'єкцій	14,47	Висока
2	Цефуроксим, таблетки або гранули для оральної суспензії або порошок для розчину для ін'єкцій	14,08	Висока
3	Амоксицилін, таблетки або порошок для оральної суспензії	13,61	Висока
4	Цефалексин, капсули або гранули для оральної суспензії	13,58	Висока
5	Кларитроміцин, таблетки або гранули для оральної суспензії	13,56	Висока
6	Цефіксим, таблетки або порошок для оральної суспензії	12,98	Достатня
7	Цефтибутен, капсули або порошок для оральної суспензії	12,66	Достатня
8	Цефподоксим, таблетки або порошок для оральної суспензії	12,65	Достатня
9	Азитроміцин, таблетки або порошок для оральної суспензії	12,51	Достатня
10	Цефадроксил, таблетки або порошок для оральної суспензії	12,47	Достатня
11	Цефтриаксон, порошок для розчину для ін'єкцій	11,27	Низька
12	Цефтазидим, порошок для розчину для ін'єкцій	11,23	Низька
13	Цефотаксим, порошок для розчину для ін'єкцій	10,99	Низька
14	Лінкоміцин, капсули або розчин для ін'єкцій	10,92	Низька
15	Цефазолін, порошок для розчину для ін'єкцій	10,62	Низька
16	Біцилін-3, порошок для суспензії для ін'єкцій	10,37	Низька
17	Цефоперазон, порошок для розчину для ін'єкцій	10,19	Низька
18	Доксициклін, капсули	10,04	Доцільність відсутня
19	Спіраміцин, таблетки	9,78	Доцільність відсутня
20	Пеніцилін, порошок для розчину для ін'єкцій	8,14	Доцільність відсутня
21	Мідекаміцин, таблетки або гранули для оральної суспензії	7,27	Доцільність відсутня

лікування гострого стрептококового тонзилофарингіту в дітей за такими параметрами, як клінічна ефективність, безпечність та частота призначення з урахуванням компетентності опитаних експертів було визначено, що найдоцільнішим є включення до формулярних та страхових переліків амоксициліну, цефуроксиму, цефалексину та кларитроміцину.

- До препаратів з найнижчим кредитом довіри лікарів-експертів можна віднести доксициклін, спіраміцин, мідекаміцин та пеніцилін, що може бути зумовлено недостатнім клінічним досвідом їхнього застосування.
- Використання «захищених» форм амінопеніцилінів раціональне лише у випадках рецидивуючого гострого тонзилофарингіту або його ускладнень.

1. Пальчун В. Т. Воспалительные заболевания глотки / В. Т. Пальчун, Л. А. Лучихин, А. И. Крюков. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 288 с.
2. Протокол надання медичної допомоги хворим з катаральною, фолікулярною та лакунарною ангінами // Наказ від 24.03.2009 № 181 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «отоларингологія». – Електронний ресурс. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20090324_181.html
3. Державний формуляр лікарських засобів (випуск восьмий) : Наказ від 14.03. 2016 № 183 «Про затвердження восьмого випуску Державного формуляра лікарських засобів та забезпечення його доступності» // Міністерство охорони здоров'я України : офіційний веб-портал. – Електронний ресурс. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20160314_0183.html
4. Рудень В. В. Методика проведення та оцінки результатів експертних оцінок (на прикладі впровадження системи моніторингу здоров'я населення на рівні первинної медико-санітарної допомоги) / В. В. Рудень, Т. Г. Гутор // Український медичний часопис. – 2011. – № 2 (82). – С. 31–34.
5. Грабовецький Б. Є. Методи експертних оцінок: теорія, методологія, напрямки використання: монографія / Б. Є. Грабовецький. – Вінниця : ВНТУ, 2010. – 171 с.
6. ESCMID Guideline for the Management of Acute Sore Throat / C. Pelucchi, L. Grigoryan, C. Galeone [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. – 2012. – V. 18, № 1. – P. 1–28.
7. Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis: 2012 Update by the Infectious Diseases Society of America / S. T. Shulman, A. L. Bisno, H. W. Clegg [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2012. – V. 55, № 10. – P. e86–e102.
8. Вентцель Е. С. Теория вероятностей и ее инженерные приложения / Е. С. Вентцель, Л. А. Овчаров. – Москва : Высшая школа, 2000. – 480 с.
9. Колкутин В. В. Об отборе экспертов для анализа конкурентоспособности аппаратно-технических средств для проведения судебных экспертиз / В. В. Колкутин, П. В. Пинчук, О. А. Васнецова // Проблемы экспертизы в медицине. – 2005. – Т. 5, № 17–1. – С. 5–8.
10. Статистика: підручник; за ред. С. С. Герасименка. – Київ : КНЕУ, 2000. – 467 с.
11. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии; под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. – Електронний ресурс. – Режим доступу: <http://www.antibiotic.ru/ab/001-07.shtml>
12. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : МОРИОН, 2001. – 408 с.
13. Legendre P. Coefficient of concordance. in: Encyclopedia of Research Design, V. 1. / N. J. Salkind. – Los Angeles : SAGE Publications Inc. – 2010. – 1776 p. – Електронний ресурс. – Режим доступу: http://adn.biol.umontreal.ca/~numerica/ecology/Reprints/Legendre_Coefficient_of_concordance_2010.pdf
14. Кривов'яз О. В. Експертна оцінка лікарських засобів групи s01e «протиглаукомні препарати та міотики» / О. В. Кривов'яз // Фармацевтичний часопис. – 2016. – № 3. – С. 32–38.
15. Values of the Chi-squared distribution. – Електронний ресурс. – Режим доступу: <https://www.medcalc.org/manual/chi-square-table.php>

А. М. Машейко, О. В. Макаренко, В. В. Маврутенков

Експертна оцінка системної антибактеріальної хіміотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту в дітей

У дитячій популяції більш поширеним є гострий тонзилофарингіт, у той час як серед дорослого населення – рецидивуючий. Рецидивуючий перебіг захворювання зумовлений численними випадками неправильно пролікованого гострого тонзилофарингіту, тому стандартизація фармакотерапії є необхідною умовою для надання якісної медичної допомоги хворим з зазначеною нозологією.

Національним протоколом лікування гострого тонзилофарингіту та Державним формуляром лікарських засобів не передбачено розподілення номенклатури протимікробних засобів системної хіміотерапії на препарати першого та другого вибору, що сприяє емпіричному та хаотичному призначенню цих засобів.

Мета дослідження – експертна оцінка антибактеріальних препаратів для системної хіміотерапії гострого стрептококового тонзилофарингіту (наявних у Національному протоколі лікування та Державному формулярі лікарських засобів) та вибір найраціональніших з точки зору їхньої клінічної ефективності, безпечності та відповідності принципам доказової медицини для включення у формулярний та страховий переліки.

Методика експертної оцінки включала наступні етапи: розробку анкети; опитування експертів методом аналітичних записок; відбір анкет з урахуванням розрахованого коефіцієнта компетентності; зведення матеріалів експертизи; розрахунок статистичних показників; інтерпретацію отриманих результатів та формулювання висновків.

За підсумками розрахунків середньозваженої бальної оцінки 21 системного антибактеріального засобу (J01) для лікування гострого стрептококового тонзилофарингіту в дітей за такими параметрами, як клінічна ефективність, безпечність та частота призначення з врахуванням компетентності

експертів було визначено, що найдоцільнішим є включення до формулярних та страхових переліків амоксициліну, цефуроксиму, цефалексину та кларитроміцину.

Ключові слова: експертна оцінка, системна антибактеріальна хіміотерапія, гострий стрептококовий тонзиллофарингіт

А. Н. Машейко, О. В. Макаренко, В. В. Маврутенков

Експертная оценка системной антибактериальной химиотерапии острого стрептококкового тонзиллофарингита у детей

В детской популяции более распространенным является острый тонзиллофарингит, в то время как среди взрослого населения – рецидивирующий. Рецидивирующее течение заболевания обусловлено многочисленными случаями неправильно пролеченного острого тонзиллофарингита, поэтому стандартизация фармакотерапии является необходимым условием для оказания качественной медицинской помощи больным с указанной нозологией.

Национальным протоколом лечения острого тонзиллофарингита и Государственным формуляром лекарственных средств не предусмотрено распределение номенклатуры противомикробных средств системной химиотерапии на препараты первого и второго выбора, что способствует эмпирическому и хаотичному назначению этих средств.

Цель исследования – экспертная оценка антибактериальных препаратов для системной химиотерапии острого стрептококкового тонзиллофарингита (представленных в Национальном протоколе лечения и Государственном формуляре лекарственных средств) и выбор наиболее рациональных с точки зрения их клинической эффективности, безопасности и соответствия принципам доказательной медицины для включения в формулярный и страховой перечни.

Методика экспертной оценки включала следующие этапы: разработку анкеты; опрос экспертов методом аналитических записок; отбор анкет с учетом рассчитанного коэффициента компетентности; сведение материалов экспертизы; расчет статистических показателей; интерпретацию полученных результатов и формулирование выводов.

По итогам расчетов средневзвешенной балльной оценки 21 системного антибактериального средства (J01) для лечения острого стрептококкового тонзиллофарингита у детей по таким параметрам, как клиническая эффективность, безопасность и частота назначения с учетом компетентности экспертов было определено, что наиболее целесообразным является включение в формулярный и страховой перечни амоксициллина, цефуроксима, цефалексина и кларитромицина.

Ключевые слова: экспертная оценка, системная антибактериальная химиотерапия, острый стрептококковый тонзиллофарингит

A. M. Masheiko, O. V. Makarenko, V. V. Mavrutenkov

The expert assessment of the systemic antimicrobial chemotherapy of acute streptococcal tonsillopharyngitis in children

In the pediatric population is more prevalent acute tonsillopharyngitis, while among adults – recurrent. Recurrent disease is caused by numerous cases of improperly treated of acute tonsillopharyngitis, so pharmacotherapy standardization is a prerequisite for providing high quality medical care to patients suffered from this nosology.

National protocol of acute tonsillopharyngitis treatment and State Drug Formulary are not provided division of systemic antibiotics into first and second-line therapy, that contributing empirical and chaotic prescription of these medicines.

The aims of the study were expert assessment of antibiotics (proposed by National protocol of acute tonsillopharyngitis treatment and listed in the State Drug Formular) and selection the most clinical efficacy and safety for inclusion in the formulary and insurance lists.

Method of expert assessment is included the following stages: development of the questionnaire; survey of doctors; selection questionnaire of competent experts; synthesis of expertise materials; calculation of statistical indicators; interpretation of the results and drawing conclusions.

Following the calculation of the average score of 21 systemic antibiotics (J01) in such parameters as clinical efficacy, safety and frequency prescription by experts it was determined that amoxicillin, cefuroxime, cephalexin and clarithromycin are the most appropriate for inclusion in the formulary and insurance lists for the treatment of acute streptococcal tonsillopharyngitis in children.

Key words: expert assessment, systemic antibiotic chemotherapy, acute streptococcal tonsillopharyngitis

Надійшла: 23 лютого 2017 р.

Контактна особа: Машейко Альона Миколаївна, викладач, кафедра соціальної медицини, організації та управління охороною здоров'я, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Вернадського, м. Дніпро, 49044. Тел.: +38 0 56 713 52 66.
Електронна пошта: orgfarm@dma.dp.ua

О. В. Кривов'яз¹, О. В. Макаренко²

Аналіз доступності лікарських засобів для лікування первинної відкритокутової глаукоми

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

Ключові слова: маркетингове дослідження, протиглаукомні засоби, доступність та ліквідність лікарських засобів

Сучасний стан вітчизняної системи охорони здоров'я та її обмежене фінансування, на жаль, не дозволяють повною мірою забезпечити право громадян на повноцінну медичну та фармацевтичну допомогу, передбачену міжнародними стандартами та законодавством України. Така тенденція зумовлена, насамперед, тим, що переважна кількість лікарських засобів закуповується за власні кошти пацієнтів, тому для малозабезпечених верств населення ліки є практично недоступними [1].

У даному дослідженні представлено аналіз доступності протиглаукомних засобів для хворих на первинну відкритокутову глаукому II та III стадії (ПВКГ). Відомо, що термін «глаукома» об'єднує групу нозологій, при яких підвищення внутрішньоочного тиску (ВОТ) призводить до атрофії зорового нерва, що викликає незворотну втрату зорових функцій аж до повної сліпоти [2, 3]. У світовому масштабі глаукома вважається невиліковним захворюванням, яке можна стабілізувати (або хоча б сповільнити його прогресування) завдяки раціональній фармакотерапії та хірургічному втручанню залежно від стадії та форми захворювання [4].

За даними ВООЗ у світі налічується понад 67 млн хворих на ПВКГ, і з кожним роком їхня кількість невпинно збільшується. Згідно з прогнозом, до 2030 року це число може подвоїтися. В Україні глаукома є першою серед основних причин сліпоти та недостатньої гостроти зору. Рівень первинної інва-

лідності від глаукоми неухильно зростає: за останні 20 років цей показник збільшився вдвічі – з 12 до 24 %. Кількість осіб, що перебувають на диспансерному обліку, з 2007 року збільшилася на 40,3 %, а розповсюдженість зросла до 0,8 на 10 тис. населення. При цьому в переважній більшості випадків глаукома вперше виявляється вже на розвиненій стадії. Саме тому фахівці вважають, що офіційна статистика не відображає реальної картини захворюваності [5, 6].

Засоби фармакотерапії глаукоми представлені широким асортиментом лікарських препаратів (як однокомпонентних, так і комбінованих), що забезпечують можливість проведення декількох ліній терапії. Антиглаукомні препарати першої лінії є аналогами простагландинів (латанопрост, травопрост), які покращують відтік внутрішньоочної рідини увеосклеральним шляхом, та блокаторами бета-адренорецепторів (бетаксол, тимолол), механізм дії яких полягає в пригніченні продукції внутрішньоочної рідини [7].

Мета дослідження – аналіз структури асортименту протиглаукомних засобів першої лінії для лікування ПВКГ II та III стадії та розрахунок коефіцієнтів, що характеризують цінову кон'юнктуру цих препаратів та їхню доступність для пацієнта.

Матеріали та методи. Інформація про протиглаукомні засоби отримана з Державного Реєстру лікарських засобів України та з сайту мережі аптек «Аптеки медичної академії» (м. Дніпро) [8]. На підставі цих даних були визначені міжнародні непатентовані назви (МНН) і торгові назви (ТН) протиглаукомних засобів, представлених на фармацевтичному ринку України в I півріччі

2016 року, країни – виробники, кількісне співвідношення засобів імпортного та вітчизняного виробництва, діапазон цін, а також розраховані показники, що дозволяють характеризувати доступність зазначених ЛЗ – коефіцієнти адекватності платоспроможності (КАП) та доступності (КД) [9]. Вказані розрахунки проводили для засобів першої лінії лікування ПВКГ II та III стадії, тобто для протиглаукомних засобів – аналогів простагландинів та бета-блокаторів. Інформаційні дані щодо середньомісячної заробітної плати (за різними видами економічної діяльності) за період січень–серпень 2016 року запозичені з сайту Головного управління статистики у Дніпропетровській області [10]. Показники середнього розміру пенсійної виплати станом на вересень 2016 року по Дніпропетровській області представлені Пенсійним Фондом України [11].

Результати та їх обговорення. Сьогодні арсенал протиглаукомних засобів, рекомендованих як препарати вибору для терапії ПВКГ II та III стадії згідно з протоколом ведення хворих на глаукому, представлений 25 торговими позиціями (таблиця).

За даними Державного Реєстру лікарських засобів станом на 1 вересня 2016 року препарати групи аналогів простагландинів (S01EE) нараховують 6 позицій представників латанопросту та травопросту. Серед бета-адреноблокаторів (S01ED) – 17 одиниць, які налічують 7 ТН бетаксололу, 2 ТН тимололу та 8 фіксованих комбінацій з тимололом.

Загалом в арсеналі протиглаукомних препаратів першої лінії спостерігали значне переважання імпортних засобів над вітчизняними – 84 та 16% відповідно. Вітчизняні засоби – аналоги простагландинів представлені лише Ланотаном (краплі очні 0,05 мг/мл виробництва «ФАРМАК», Україна); інші ж ТН препаратів вибору терапії ПВКГ II та III стадії цього класу є продуктами фармацевтичних корпорацій європейських країн – Бельгії, Італії, Польщі, Хорватії, Словенії та Румунії. Подібну тенденцію спостерігали й серед бета-адреноблокаторів: тільки Офтимол («ФАРМАК») та Тимолол-Дарниця («ДАРНИЦЯ») є вітчизняними. Інші засоби цієї лінії представлені фірмами-виробниками Німеччини, Бельгії, Єгипту, Фінляндії, а комбінації тимололу – Бельгії, Ірландії, США, Польщі, Румунії та Греції.

Найширшим ціновим діапазоном характеризувався латанопрост (143,05–1280,0 грн) та комбінації з тимололом (185,59–814,0 грн).

Для аналізу цінової кон'юнктури протиглаукомних препаратів був проведений розрахунок коефіцієнта ліквідності ціни (K_{liq}) та КАП. Відомо, що K_{liq} відображає інтервал між найменшою та найвищою ціною на певний лікарський засіб на конкретному ринку та є характеристикою ступеня конкуренції між суб'єктами роздрібної ланки: чим нижчий K_{liq} , тим вища конкуренція на ринку, а значить, лікарські засоби є доступнішими для споживача. Оптимальний K_{liq} не повинен перевищувати 0,15 [10].

Таблиця

Протиглаукомні препарати першої лінії для лікування первинної відкритокутової глаукоми, наявні на фармацевтичному ринку України

№	Міжнародна непатентована назва	Кількість торгових назв			Ціновий діапазон, грн
		усього	імпортні	вітчизняні	
Аналоги простагландинів					
1	Латанопрост (Latanoprostum)	6	5	1	143,05–1280,0
2	Травопрост (Travoprostum)	2	2	-	228,19–556,0
Блокатори бета-адренорецепторів					
3	Тимолол (Timololum)	6	4	2	25,75–86,70
4	Бетаксолол (Betaxololum)	2	2	-	90,30–126,75
5	Тимолол – комбінації	8	7	1	185,59–814,0

Нами показано, що в аналогів простагландинів K_{liq} у межах 0,04–0,06 спостерігали в 5 засобів (Ксалтан, Ланотан, Латанокс, Латасопт, Тафлотан), у інших – перевищував показник 0,15 (рисунк). Серед ПГП групи бета-адреноблокаторів $K_{liq} < 0,15$ реєстрували в 37,5 % засобів; у двох одиниць (Кузимолол та Норматин) K_{liq} складав 0,15. У 37,5 % випадків спостережень зазначений показник перевищував 0,15. При цьому всі протиглаукомні комбінації з тимололом мали $K_{liq} > 0,15$, що підтверджувало досить великий розмах між їхньою мінімальною та максимально ціною.

Ще однією характеристикою рівня купівельної спроможності населення є КАП, який розраховується як відсоткове вираження відношення середньої роздрібної ціни на лікарський засіб до середньої заробітної плати за певний період. Відомо, що низький показник КАП забезпечує доступність препарату та гарантує його продаж за умов низького платоспроможного попиту населення.

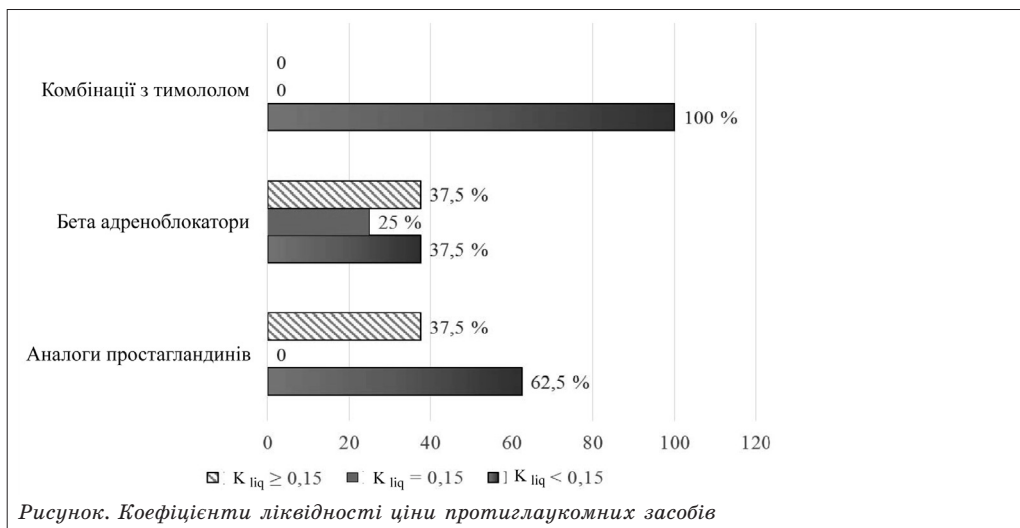
Нами визначений КАП як для працюючих пацієнтів, так і для людей пенсійного віку, так як ПВКГ II та III стадії найчастіше зустрічається в пацієнтів цієї вікової категорії.

Встановлено, що КАП для аналогів простагландинів знаходився в діапазоні 3,4–11,2 % для пацієнтів, що працюють, та 8,3–27,3 % для пенсіонерів. Найвищим КАП характеризувався Ксалтан («Пфайзер», Бельгія). Зокрема, пацієнт пенсійного віку з середнім

доходом у 2018,25 грн вимушений нести витрати до 1/3 зазначеної суми на місячний курс лікування. КАП практично на тому самому рівні (26,7 %) реєстрували й для Тафлотану («Сантен АО», Фінляндія).

Цінова політика щодо бета-адреноблокаторів характеризувалася КАП у межах 0,21–2,44 % для працюючих пацієнтів та 0,53–5,9 % для пенсіонерів, що свідчило про найбільшу доступність саме цієї групи ПГП для хворих на ПВКГ II та III стадії. Однак відомо, що хворим цієї категорії найчастіше призначають не монокомпонентні засоби бета-адреноблокаторів, а комбіновані протиглаукомні краплі. Оцінкою КАП для комбінацій з тимололом показано, що для працюючих пацієнтів з середньою заробітною платою 4896,00 грн витрати на курсову терапію коливалися в межах від 3,84 до 5,80 % сукупного доходу. При цьому для пацієнтів пенсійного віку зазначений показник реєстрували в інтервалі 9,3–14,2 %. На жаль, один з найнеефективніших ПГП цієї групи – краплі Ксалаком («Пфайзер», США) – для людей похилого віку майже недоступний: КАП складає майже 40 % від їхнього доходу, а для працюючих пацієнтів – 16 %.

Таким чином, результати аналізу КАП та K_{liq} для протиглаукомних засобів першої лінії лікування хворих на ПВКГ II та III стадії свідчать про наявність достатнього арсеналу таких препаратів. При цьому не всі ПГП є доступними за фінан-



совими показниками як для працездатних пацієнтів, так і для пенсіонерів.

Висновки

1. Лікарські засоби першої лінії для лікування хворих на ПВКГ II та III стадії на фармацевтичному ринку України на вересень 2016 року представлені в достатньому обсязі; протиглаукомні засоби імпортного виробництва майже у 8 разів переважають арсенал відповідних вітчизняних препаратів.

2. Серед аналогів простагландинів та бета-блокаторів 37,5 % засобів мають K_{liq} нижчий ніж 0,15, що свідчить про їхню конкурентоспроможність.

3. Протиглаукомні засоби групи аналогів простагландинів є більш доступними для працюючих пацієнтів, але несуть значне фінансове навантаження для осіб пенсійного віку, що вимагає аналізу шляхів реімбурсації витрат хворим на ПВКГ.

1. Котвіцька А. А. Науково-методичні підходи до вдосконалення фармацевтичного забезпечення осіб похилого та старечого віку (методичні рекомендації) / А. А. Котвіцька, О. А. Пастухова / Український центр медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. – Київ, 2015. – 36 с.
2. Волков В. В. Глаукома открытоугольная / В. В. Волков. – Москва : ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. – 348 с.
3. Глаукома первинна відкритокутова. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: www.dec.gov.ua/mt/dodatk/816/816dod4.
4. Егоров Е. А. Глаукома. Национальное руководство / Е. А. Егоров. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 824 с.
5. Збітнєва С. В. Захворюваність населення України на хвороби ока та його придаткового апарату / С. В. Збітнєва // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2010. – № 3. – С. 14–18.
6. Либман Е. С. Современные позиции клинко-социальной офтальмологии / Е. С. Либман // Вестник офтальмологии. – 2004. – № 1. – С. 10–12.
7. Кривов'яз О. В. Фармакотерапія глаукоми: сучасний стан проблеми (огляд літератури) / О. В. Кривов'яз // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 4–5 (35). – С. 3–13.
8. Мережа аптек «Аптеки медичної академії» <http://www.ama.dp.ua/> [Електронний ресурс]
9. Громовик Б. П. Фармацевтичний маркетинг: теоретичні та прикладні засади / Б. П. Громовик, Г. Д. Гасюк, О. Р. Левицька. – Вінниця : НОВА КНИГА, 2004. – С. 213–215.
10. Головне управління статистики у Дніпропетровській області <http://www.dneprstat.gov.ua/statinfo%202015/dn/index.htm> [Електронний ресурс]
11. Пенсійний фонд України (офіційний сайт) http://www.pfu.gov.ua/pfu/control/uk/publish/category?cat_id=95533 [Електронний ресурс]

О. В. Кривов'яз, О. В. Макаренко

Аналіз доступності лікарських засобів для лікування первинної відкритокутової глаукоми

У зв'язку з постійним характером фармакотерапії відкритокутової глаукоми для хворих II та III стадії стало актуальним визначити доступність лікарських засобів.

Мета дослідження – аналіз структури асортименту протиглаукомних засобів першої лінії для лікування первинної відкритокутової глаукоми II та III стадії та розрахунок коефіцієнтів, що характеризують цінову кон'юнктуру цих препаратів та їхню доступність для пацієнта.

Проведений маркетинговий аналіз засобів першої лінії лікування глаукоми, а саме, аналогів простагландину, бета-адреноблокаторів та комбінованих крапель показав, що в арсеналі протиглаукомних засобів переважна більшість імпортного (84 %), ніж вітчизняного (16 %) виробництва з широким ціновим діапазоном. При аналізі показників ліквідності серед груп S01EE (аналоги простагландинів) та S01ED (бета-адреноблокатори) коефіцієнт $\geq 0,15$ реєстрували для 37,5 % як першої, так і другої групи, що свідчить про досить широкі розбіжності між мінімальною та максимальною ціною. Проте для комбінованих засобів коефіцієнт ліквідності складав менше ніж 0,15 для всіх позицій з переліку протиглаукомних засобів, що оптимально за доступністю для споживачів. Одним з критеріїв купівельної спроможності є показник коефіцієнта платоспроможності (КАП). Нами проведений аналіз КАП споживачів, що працюють (середній показник заробітної платні складає 4896,00 грн), та пацієнтів з пенсійним забезпеченням (середній показник для регіону в аналізований період складає 2018,25 грн). Встановлено, що протиглаукомні засоби групи аналогів простагландинів є більш доступними для працюючих пацієнтів (КАП 3,4–11,2 %) порівняно з пацієнтами похилого віку (КАП до 27,3 %), що вимагає аналізу шляхів реімбурсації витрат хворих первинною відкритокутовою глаукомою II та III стадії. Бета-адреноблокатори та комбіновані краплі є більш доступними для обох груп споживачів.

Ключові слова: маркетингове дослідження, протиглаукомні засоби, доступність та ліквідність лікарських засобів

Е. В. Кривовяз, О. В. Макаренко

Анализ доступности лекарственных средств для лечения первичной открытоугольной глаукомы

В связи с постоянным характером фармакотерапии открытоугольной глаукомы для больных II и III стадия является актуальным определить доступность лекарственных препаратов.

Цель исследования – анализ структуры ассортимента протиглаукомных средств первой линии для лечения первичной открытоугольной глаукомы II и III стадии и расчет коэффициентов, которые характеризуют ценовую конъюнктуру этих препаратов и их доступность для пациента.

Проведенный маркетинговый анализ препаратов первой линии лечения глаукомы, а именно, аналогов простагландинов, бета-адреноблокаторов и комбинированных капель показал, что в арсенале противоугловых препаратов преобладают импортные средства (84 %), препараты отечественного производства составляют 16 %. При анализе показателей ликвидности среди групп S01EE (аналоги простагландинов) и S01ED (бета-адреноблокаторы) коэффициент $\geq 0,15$ регистрировали у 37,5 % как первой, так и второй группы, что свидетельствует о широком диапазоне между минимальной и максимальной ценой. Для всех перечисленных комбинированных средств коэффициент ликвидности составлял меньше 0,15, что является оптимальным показателем доступности для потребителя. Одним из критериев покупательской способности является показатель коэффициента платежеспособности (КАП). Нами проведен анализ КАП потребителей, которые работают (средний показатель заработной платы в регионе 4896,00 грн) и пациентов пенсионного обеспечения (средний показатель для региона в анализируемый период составлял 2018,25 грн). Установлено, что противоугловые препараты группы аналогов простагландинов более доступны для работающих пациентов (КАП 3,4–11,2 %), но финансово неподъемны для пациентов пожилого возраста (КАП до 27,3 %), что требует анализа путей реимбурсации затрат больным первичной открытоугольной глаукомой II и III стадии. Бета-адреноблокаторы и комбинированные капли более доступны для потребителей обеих социальных групп.

Ключевые слова: маркетинговое исследование, противоугловые препараты, доступность и ликвидность лекарственных препаратов

О. В. Kryvov'yaz, O. V. Makarenko

Analysis of the availability of drugs for the treatment of primary open-angle glaucoma

Due to the ongoing nature of open-angle glaucoma pharmacotherapy it was important to determine the financial availability of medicines for patients with II and III stages of this disease.

The aim of the study was marketing research of range of prostaglandin analogues, beta-blockers and combined drops for treatment open-angle glaucoma.

Overall, considerable prevailing of investigational products import (84 %) over home manufacture (16 %) with a wide price range was observed. The price liquidity ratio of 37,5 % for both prostaglandin analogs (S01EE) and beta-blockers (S01ED) was more than 0,15 that shows the significant difference between the lowest and the highest price. However, the price liquidity ratio of the combined drops was less than 0,15 that means financial availability these medicines for consumers. Next criteria of the purchasing power is the adequacy solvency ratio (K a.s.). We calculated the adequacy solvency ratio for working patients (the average salary is 4896,00 UAH) and holder of pension (the average pension is 2018,25 UAH). It was found, that prostaglandin analogues are financial available for working patients (K a.s. 3,4–11,2 %), but not available for elderly patients (K a.s. to 27,3 %), that requires analysis of the ways of reimbursement costs for patients with primary open-angle glaucoma II and III stages. Beta-blockers and combined drops are affordable as for working patients and for elderly patients holder of pension.

Key words: marketing research, the price liquidity ratio, the adequacy solvency ratio, the primary open-angle glaucoma treatment

Надійшла: 21 лютого 2017 р.

Контактна особа: Макаренко Ольга, доктор медичних наук, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпро, 49044.
Тел.: + 38 0 97 508 46 87.

CONTENT

REVIEWS

- Vrynchanu N. O.* Candidiasis. Challenges and prospects of antifungal therapy (part II).....3
- Soloviev A. I.* Myogenic automaticity and vascular basal tone (cellular oscillators as pharmacological targets in therapy of vascular diseases)..... 18

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

- Larionov V. B., Reder A. S., Golovenko N. Ya., Valivodz' I. P.* Propoxazepam antiepileptic efficacy on the maximal electroshock model 47

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

- Zupanets I. A., Shebeko S. K., Otrishko I. A.* Study of the drug «Kapikor» influence on the endothelial dysfunction in rats with cerebral ischemia.....54
- Kalko K. O., Drogovoz S. M.* Circadian dependence of Antral hepatoprotective activity on the model of acute paracetamol-induced hepatitis in rats62
- Markhon N. O., Zhylyuk V. I., Lievykh A. E., Mamchur V. I.* Features of lipidogram changes in rats blood under metabolic syndrome and pharmacotherapy by extract of rowanberries and resveratrol.....69
- Khromov A., Hula N., Dobrelia N., Soloviev A.* Peculiarity of hypoxic pulmonary vasoconstriction in diabetic rats.....76

CLINICAL PHARMACOLOGY

- Kraydashenko O. V., Belenichev I. F., Stets R. S., Kosogor Y. A., Kaptur L. N., Anishchenko M. A.* Legal support of pharmacovigilance in Ukraine and ways of its improvement86
- Mamchur V. Y., Nalotov S. V., Nosivets D. S., Guryanov V. G., Palamarchuk V. I., Ogor A. J.* Safety of the symptomatic treatment of patients with pain syndrome of various genesis by combined analgetic drug «Fanigan»92
- Masheiko A. M., Makarenko O. V., Mavrutenkov V. V.* The expert assessment of the systemic antimicrobial chemotherapy of acute streptococcal tonsillopharyngitis in children.....99

ISSUES OF PHARMACY, PHARMACEUTICAL MARKET, PHARMACOECONOMICS

- Kryvov'yaz O. V., Makarenko O. V.* Analysis of the availability of drugs for the treatment of primary open-angle glaucoma..... 107