
СПІВЗАСНОВНИКИ

Національна академія медичних наук України •
Державна установа «Інститут фармакології та токсикології

Національної академії медичних наук України» •
Державне підприємство «Державний експертний центр
Міністерства охорони здоров'я України» •

Всеукраїнська громадська організація «Асоціація фармакологів України»

ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 1 (57)/2018

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

- Бондаренко Л. Б.* Біомаркери метаболічного синдрому: нові аспекти 3
- Цивунін В. В., Дроговоз С. М., Штриголь С. Ю., Штробля А. Л.* Безпечна та ефективна альтернатива допінгу: використання карбокситерапії в спорті 13

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

- Бондарєв Є. В., Штриголь С. Ю., Горбач Т. В.* Вміст інтерлейкінів IL-1 β та IL-10 у крові за гострої холодової травми в щурів 21
- Демченко С. А., Бухтіарова Т. А., Бобкова Л. С., Демченко А. М.* Синтез і протівірусна активність похідних 1-(2,3-дигідробензо [1,4]діоксан-6-їл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-3H-імідазо[1,2-a]азепінію та субстанції Амізону 26
- Єлінська А. М., Швайковська О. О., Костенко В. О.* Вплив епігалокатехін-3-галату на продукцію активних форм кисню й азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системної запальної відповіді 32
- Калько К. О., Міщенко О. Я., Позднякова А. Ю., Деримедвідь Л. В., Золотайкіна М. Ю., Гонтова Т. М., Почелова О. В.* Скринінгові дослідження жовчогінної активності рідкого екстракту трави пижма звичайного (*Tanacetum vulgare*) за умов субхронічного гепатиту в щурів 39
- Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Лар'яновська Ю. Б.* Вплив настойки яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) та метформіну на гістоструктуру та функцію нирок щурів з алоксановим діабетом 45
- Яцина О. І., Паршиков О. В., Костєв Ф. І., Соловійов А. І.* Кверцетин нормалізує скоротливу активність гіперактивного сечового міхура щурів 59

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

- Пахольчук О. П.* Оцінка патогенетично обгрунтованого лікування шкірних проявів харчової гіперчутливості в дітей 66
-

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

Гращенко С. А., Кошова О. Ю., Яковлева Л. В. Дослідження гострої та специфічної токсичності таблеток «Елгацин», засобу геропротекторної дії..... 73

Філіпова Т. О., Головенко М. Я., Галкін М. Б., Редер А. С., Ларіонов В. Б. Визначення мутагенної активності анксиолітичних лікарських засобів гідазепаму, левани та інноваційної аналгетичної сполуки пропоксазепаму в мікропланшетному варіанті тесту Еймса 81

ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ, ФАРМАКОЕКОНОМІКИ

Тригубчак О. В. Вивчення впливу кількостей допоміжних речовин на фармако-технологічні показники шипучих таблеток 88

СОДЕРЖАНИЕ 95

CONTENT 96

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

- Бондаренко Л. Б.* Биомаркеры метаболического синдрома: новые аспекты.....3
- Цывунин В. В., Дроговоз С. М., Штрыголь С. Ю., Штробля А. Л.* Безопасная и эффективная альтернатива допинга: использование карбокситерапии в спорте 13

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

- Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю., Горбач Т. В.* Содержание интерлейкинов IL-1 β и IL-10 в крови при острой холодовой травме у крыс 21
- Демченко С. А., Бухтиярова Т. А., Бобкова Л. С., Демченко А. М.* Синтез и противовирусная активность производных 1-(2,3-дигидробензо[1,4]диоксан-6-ил)-3-арил-3-гидрокси-2,5,6,7,8,9-гексагидро-3H-имидазо[1,2-a]азепиния и субстанции Амизона 26
- Елинская А. Н., Швайковская Е. О., Костенко В. А.* Влияние эпигаллокатехин-3-галлата на продукцию активных форм кислорода и азота в тканях пародонта и слюнных желез крыс в условиях системного воспалительного ответа 32
- Калько Е. А., Мищенко О. Я., Позднякова А. Ю., Деримедведь Л. В., Золотайкина, М. Ю., Гонтовая Т. Н., Почелова Е. В.* Скрининговые исследования желчегонной активности жидкого экстракта травы пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare*) в условиях субхронического гепатита у крыс 39
- Товчига О. В., Штрыголь С. Ю., Ларьяновская Ю. Б.* Влияние настойки сныти обыкновенной (*Aegopodium podagraria* L.) и метформина на структуру и функцию почек крыс с аллоксановым диабетом..... 45
- Яцина А. И., Паршиков А. В., Костев Ф. И., Соловьев А. И.* Кверцетин нормализует сократительную активность гиперактивного мочевого пузыря крыс 59

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

- Пахольчук О. П.* Оценка патогенетически обоснованного лечения кожных проявлений пищевой гиперчувствительности у детей 66

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

- Гращенко С. А., Кошечая Е. Ю., Яковлева Л. В.* Изучение острой и специфической токсичности таблеток «Элгацин», препарата геропротекторного действия 73
- Филиппова Т. О., Головенко Н. Я., Галкин Н. Б., Редер А. С., Ларионов В. Б.* Определение мутагенной активности анксиолитических лекарственных средств гидазепама, леваны и инновационного анальгетического соединения пропоксазепама в микропланшетном варианте теста Эймса 81

ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА, ФАРМАКОЭКОНОМИКИ

- Тригубчак О. В.* Изучение влияния количеств вспомогательных веществ на фармако-технологические показатели шипучих таблеток 88
-

CONTENT

REVIEWS

<i>Bondarenko L. B.</i> Biomarkers of metabolic syndrome: new aspects	3
<i>Tsyvunin V. V., Drogovoz S. M., Shtrygol' S. Yu., Shtroblia A. L.</i> A safe and effective alternative to doping: the use of carboxytherapy in sport	13

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

<i>Bondarev E. V., Shtrygol' S. Yu., Gorbach T. V.</i> Content of interleukins of IL-1 β and IL-10 in the blood after acute cold trauma in the rats	21
<i>Demchenko S. A., Bukhtiarova T. A., Bobkova L. S., Demchenko A. M.</i> Synthesis and antiviral activity of 1-(2,3-dihydro-[1,4]dioxin-6-yl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium based compounds and active substance of Amizon	26
<i>Yelins'ka A. M., Shvaykovs'ka O. O., Kostenko V. O.</i> Influence of epigallocatechin-3-gallate on production of reactive oxygen and nitrogen species in tissue of peridontium and salivary glands under systemic inflammatory response in rats.....	32
<i>Kalko K. O., Mishchenko O. Ya., Pozdniakova A. Yu., Derymedvid L. V., Zolotaykina M. Yu., Gontova T. M., Pochelova O. V.</i> Screening studies of the common tansy grass (<i>Tanacetum vulgare</i>) liquid extract choleric activity under subchronic hepatitis in rats	39
<i>Tovchiga O. V., Shtrygol' S. Yu., Laryanovska Yu. B.</i> The influence of goutweed (<i>Aegopodium podagraria</i> L.) tincture and metformin on the structure and functions of the kidney in alloxan-induced diabetic rats	45
<i>Iatsyna O. I., Parshykov O. V., Kostev F. I., Soloviev A. I.</i> Quercetin normalizes the contractile activity of the rat overactive bladder	59

CLINICAL PHARMACOLOGY

<i>Pakholchuk O. P.</i> Evaluation of the pathogenetically substantiated therapy of the skin symptoms at the food hypesensitivity in children	66
---	----

CURRENT ISSUES OF DRUG TOXICOLOGY

<i>Grashchenkova S. A., Koshova O. Yu., Iakovlieva L. V.</i> Study of acute and specific toxicity of Elgacin tablets, agent of geroprotective action	73
<i>Filipova T. O., Golovenko M. Ya., Galkin M. B., Reder A. S., Larionov V. B.</i> Determination of the mutagenic activity for anxyolythics gidazepam, levana and innoative propoxazepam in microplate Ames test	81

ISSUES OF PHARMACY, PHARMACEUTICAL MARKET, PHARMACOECONOMICS

<i>Tryhubchak O. V.</i> Study of excipients quantities influence on the pharmaco-technological parameters of the effervescent tablets	88
---	----

Л. Б. Бондаренко

Біомаркери метаболічного синдрому: нові аспекти

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

Ключові слова: метаболічний синдром, біомаркери, позаклітинні везикули, ліпосоми

Беручи до уваги те, до яких тяжких наслідків може призвести метаболічний синдром (МС), існує необхідність максимально ранньої його діагностики та початку фармакотерапії. При терапії багатьох патологічних станів медицина спирається на біомаркери для їхньої діагностики та лікування в ситуаціях, коли наочні клінічні ознаки або значні анатомічні аномалії відсутні або не є очевидними. Крім того, біомаркери допомагають виявити в популяції осіб, схильних до конкретної хвороби, на основі «генотипу», а не за даними історії їхніх захворювань. Вони також дають можливість кількісно оцінити цю схильність, дозволяючи оцінити ризик захворювання для різних верств населення [1].

Біомаркери МС можуть забезпечити порівняно легкий, мінімально інвазивний спосіб ідентифікації осіб, схильних до розвитку МС і подальших ускладнень. Наразі виділено багато досить інформативних біомаркерів МС (табл. 1) [1]. Серед них найдослідженішим є лептин – це адипокін, який за нормальних фізіологічних умов відповідає за зниження апетиту, збільшення витрати енергії, підвищення фізичної активності, полегшення засвоєння глюкози, а також за поліпшення чутливості до інсуліну [2]. У результаті в організмі підтримуються відповідні рівні жирової тканини. Хоча лептин продукується в основному адипоцитами, він також виробляється в клітинах гладеньких м'язів судин, кардіоміоцитах і плаценти у вагітних жінок. Функціональний рецептор лептину знаходиться в гіпоталамусі.

Адипонектин, як і лептин, продукується в жировій тканині й є білком

Таблиця 1

Рівні біомаркерів за метаболічного синдрому [1]

Біомаркер	Джерело	Зміни за метаболічного синдрому
Лептин	Адипоцити, кардіоміоцити, гладенькі м'язи судин	Зростання
Адипонектин	Адипоцити	Зниження
Грелін	Шлунок	Зниження
Інгібітор активатора плазміногена (PAI-1)	Адипоцити, гепатоцити, гладенькі м'язи судин, тромбоцити	Зростання
Сечова кислота	Печінка	Зростання
Інтерлейкін-6 (IL-6)	M1 макрофаги	Зростання
Фактор некрозу пухлин-α (TNF-α)	Вісцеральні адипоцити, M1 макрофаги	Зростання
Інтерлейкін - 10 (IL-10)	Моноцити, M2 макрофаги	Зниження
Окиснені ліпопротеїни низької щільності (OxLDL)	Адипоцити	Зростання
Параоксоназа-1 (PON-1)	Печінка	Зниження

плазми, що чинить різноманітні біологічні ефекти. Однак на відміну від лептину він секретується виключно адипоцитами [3]. Адипонектин має антиатерогенну, інсулін-сенситизуючу, вазодилатуючу дію, а також стимулює окиснення ліпідів. Тому, само собою зрозуміло, що він залучений до розвитку МС з огляду на його вплив на всі ці компоненти. Він пригнічує практично всі процеси розвитку атеросклеротичних судинних змін: експресію молекул адгезії в ендотеліальних клітинах судин, адгезію моноцитів до ендотеліальних клітин (через TNF- α гальмування), проліферацію та міграцію клітин гладеньких м'язів судин, формування тучних клітин (через інгібування окиснення ЛПНЩ (OxLDL) [4]. Цей білок має інсулін-сенситизуючу активність, спричиняючи значний захисний ефект щодо попередження розвитку цукрового діабету II типу у спадково схильних до нього осіб [5], а його низький рівень у плазмі може розцінюватися як самостійний фактор ризику розвитку діабету II типу [6]. У пацієнтів з гіпертонічною хворобою та ожирінням рівні адипонектину є зниженими, але вони можуть бути підвищені в разі втрати ваги [7]. Результати досліджень свідчать, що більш показовим параметром щодо МС є скоріше співвідношення лептин: адипонектин, а не ці показники, взяті окремо [1, 6, 7].

Грелін є нейроендокринним гормоном, що секретується, у першу чергу, шлунком. Його функцією є збудження апетиту як безпосередньо через активацію GH рецептора секреції 1a (GHSR-1a) у гіпоталамусі, так і опосередковано – за рахунок збільшення експресії нейропептиду Y (NPY) [8, 9]. МС пов'язаний зі зниженням рівнів греліну, а прогресуюче падіння рівнів греліну в свою чергу зумовлює поглиблення патологічних змін за МС. Рівні греліну знижуються одночасно зі зростанням кількості розладів, що супроводжують даний стан [10–13].

Інгібітор активатора плазміногена-1 (PAI-1) є первинним з чотирьох інгібіторів серинових пептидаз, функцією якого є модуляція процесів відновлення позаклітинного матриксу та фібринолізу. Проте за патологічних умов PAI 1 індукується багатьма прозапальними

та прооксидантними факторами. Зв'язок між PAI-1 і розвитком МС встановлено давно. Чим більш серйозні патологічні зміни супроводжують МС, тим вище рівень PAI-1 [14–16].

Сечова кислота є термінальним продуктом розпаду пуринів, що виробляється печінкою й екскретується, у першу чергу, нирками і, крім того, – кишківником. Рівні сечової кислоти значно підвищені в чоловіків з абдомінальним ожирінням і в жінок з абдомінальним ожирінням і гіпертонією [17]. Вважається, що гіперурикемія є маркером інсулінорезистентності, оскільки деякі дослідження показали, що зниження резистентності до інсуліну за допомогою дієти або ліків одночасно знижує рівень сечової кислоти [18–20].

Інтерлейкін-6 (IL-6) – прозапальний цитокін, який бере участь у природному процесі реалізації запальної реакції. Він часто секретується M1 макрофагами як складова частина нормальної запальної відповіді на інфекцію та травму [21]. За умов МС часто присутня дисфункція адипоцитів, асоційована зі збільшенням популяції M1 макрофагів у жировій тканині. Це може призвести до підвищеної секреції IL-6 та інших прозапальних цитокінів адипозною тканиною. Ці прозапальні цитокіни можуть потім спричиняти свій вплив через декілька клітинних сигнальних шляхів, у тому числі через mTOR і протейніназу C (PKC), індуюючи резистентність до інсуліну. Дослідження показали, що підвищені рівні IL-6 тісно пов'язані з МС. Чим вище рівні IL-6, тим серйозніші наслідки розвитку МС (гіпертригліцеридемія, гіпертонія, гіперглікемія) [22–24].

Фактор некрозу пухлин-альфа (TNF- α) прозапальний цитокін, що секретується вісцеральною жировою тканиною, є одним з загальноприйнятих показників МС [25]. Оскільки МС часто характеризується порушенням регуляції адипоцитів, і ці дизрегульовані адипоцити, як правило, інтенсивно виділяють більші кількості TNF- α , IL-6 та інших прозапальних адипокінів, то центральне ожиріння, що часто зустрічається за МС, може розглядатись як фактор ризику щодо підвищених рівнів

TNF- α [25]. Крім того, підвищені рівні TNF- α пов'язані з резистентністю до інсуліну, що реалізується за рахунок аномальної активації mTOR і протеїнкіназа-С-опосередкованих сигнальних шляхів [25]. Внесок TNF- α до формування різних складових МС настільки суттєвий, що дає змогу припустити, що цей цитокін може суттєво впливати на розвиток і прогресування пов'язаних з даним синдромом патологічних процесів (гіпертригліцеридемії, гіпертонії, гіперглікемії).

Інтерлейкін-10 (IL-10) – це переважно протизапальний цитокін, який бере участь у модуляції системного запалення. Значення IL-10 щодо МС у цілому трохи складніше. Дослідження на дітях, які страждали на ожиріння, показали зміни рівнів IL-10 саме в разі МС. Припускають, що це може бути пов'язано з першою фазою складного механізму розвитку МС у дітей [26]. Дослідження жінок з ожирінням і без ожиріння виявили підвищені рівні IL-10 у жінок з ожирінням порівняно з жінками, що не страждають на ожиріння. Однак у жінок з МС рівні IL-10 були значно нижче в обох дослідних групах (з ожирінням і без ожиріння) [27]. Інші дослідники також показали, що рівні IL-10 були суттєво знижені в пацієнтів з МС, як чоловіків, так і жінок [28, 29]. Було встановлено, що рівні IL-10 корелюють з рівнями інших цитокінів, таких як IL-6 і TNF- α . У пацієнтів з МС з IL-10 також корелює вміст адипонектину [30].

Окиснений ліпопротеїн низької щільності (OxLDL) являє собою продукт окиснення ліпідів і може служити маркером окисного стресу. Дослідження показали, що рівні OxLDL значно підвищені в хворих на МС, і таке підвищення в подальшому асоційоване зі зниженням еластичності стінок артерій, що є фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань [31, 32]. Інші дослідження на дітях виявили зв'язок підвищених рівнів OxLDL з розвитком ожиріння та резистентності до інсуліну. Було показано, що окиснювальний стрес може бути чинником, який сприяє розвитку резистентності до інсуліну ще в ранньому віці [33].

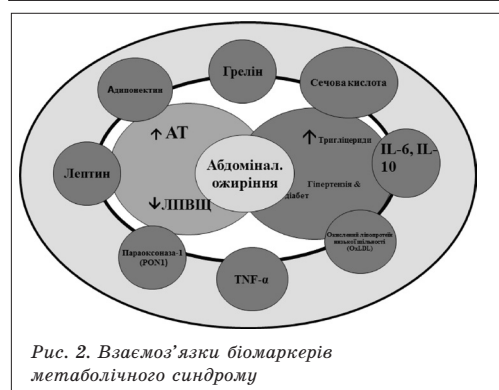
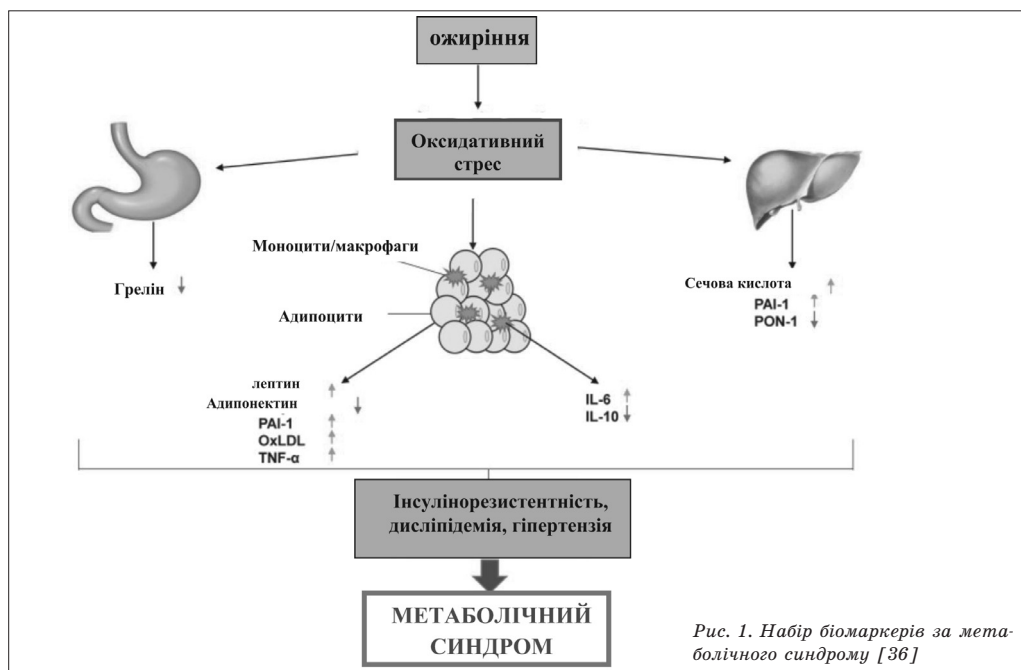
Параоксоназа-1 (PON1) є ферментом, який вносить свій вклад у реалізацію антиоксидантних і протизапальних ефектів ліпопротеїдів високої щільності [34, 35]. Зниження рівнів PON-1 пов'язані з розвитком центрального ожиріння та МС. Крім того, більш низькі рівні PON-1 відзначалися за гіпертензії, гіпертригліцеридемії, резистентності до інсуліну, порушеннях толерантності до глюкози, а також стимуляції окисного стресу [34].

Таким чином, рівні лептину, PAI-1, сечової кислоти, IL-6, TNF- α , OxLDL і співвідношення лептин/адипонектин підвищуються за МС у пацієнтів різних популяцій і, у цілому, корелюють з іншими показниками наявності МС. З іншого боку, вміст адипонектину, греліну, IL-10, і PON-1 зменшується за МС (табл. 1).

Не зважаючи на дуже інтенсивний науковий пошук у галузі біомаркерів МС, натепер не можна остаточно визначити оптимальний набір маркерів для якісного моніторингу МС у всіх популяціях. Визнається за доцільне застосування набору, а не окремих біомаркерів, оскільки ці сполуки здатні відігравати декілька біологічних ролей і наразі неможливо виділити один високоспецифічний біомаркер для діагностики МС (рис. 1) [36]. Крім того, більшість цих біомаркерів взаємопов'язані своїми функціями за розвитку МС, тому оцінка кореляційних взаємовідношень між біомаркерами також є корисною для кращої діагностики стану пацієнтів (рис. 2, табл. 1).

Пошук нових і високоспецифічних маркерів МС триває, і в останнє десятиріччя увага вчених все більше концентрується на так званих позаклітинних везикулах – EVs (рис. 3) [37]. Їхнє виявлення та дослідження стало серйозним проривом у розумінні механізмів індукції та розвитку МС.

Позаклітинні везикули (EVs) – мембрановмісні замкнені утворення, що продукуються клітинами всіх типів, здатні переносити біологічно активні сполуки в метаболічно регульованих процесах, впливати на функціональний стан клітин-реципієнтів, відігравати важливу роль у міжклітинній комунікації, змінювати стан багатьох систем



організму. Позаклітинні везикули були виявлені в більшості біологічних рідин людини і мають широкий потенціал як неінвазивні біомаркери різних патологічних станів [38].

Було виявлено та досліджено декілька основних типів позаклітинних везикул, що різняться за способами утворення, складом та функціями в організмі (рис. 4, табл. 2) [39, 40]. Можливості вивчення цих утворень значно розширилися лише останніми роками завдяки розробці та впровадженню в наукову практику принципово нового обладнання – кольорової електронної мікроскопії.

Свій вплив на організм EVs здатні спричиняти кількома шляхами:

- позаклітинні везикули можуть безпосередньо взаємодіяти з клітинами-мішенями за кількома різними меха-

нізмами;

- позаклітинні везикули можуть опосередковано впливати на клітини-мішені шляхом перенесення біологічно активних речовин.

Зміни фізіологічного стану організму здатні позначатись на процесах взаємодії між EVs і клітинами-мішенями шляхом зміни складу молекул, локалізованих на поверхні клітинних мембран, порушення їхньої спорідненості до EVs або інтенсивності захоплення позаклітинних везикул. Незважаючи на те, що більшість досліджень була спрямована на всебічне вивчення механізмів функціонування позаклітинних везикул у різних типах клітин, загалом ці результати свідчать про наявність в організмі єдиної комплексної та узгодженої регуляторної системи, що може реагувати на різні фізіологічні та патологічні зміни мікросередовища [37, 38].

РНК позаклітинних везикул здатні включатися у функціонування всередині клітин-реципієнтів різними способами [38]. У цьому разі окиснювальний стрес здатен змінювати вміст РНК позаклітинних везикул та їхні функціональні ефекти в клітинах-мішенях.

Ліпіди є ще одним важливим компонентом позаклітинних везикул. Дослідження позаклітинних везикул декількох типів клітин виявляють широку

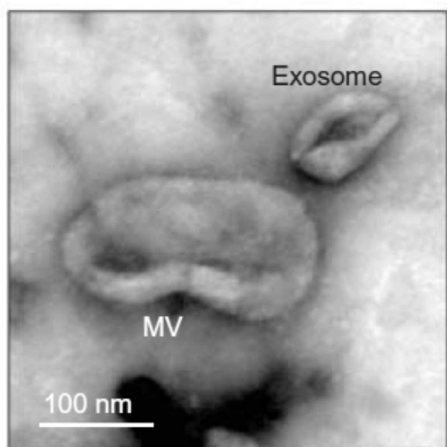


Рис. 3. Електронно-мікроскопічне зображення позаклітинних мікроезистул (MV) та екзосом (EX) [37]

мінливість ліпідому, хоча деякі обов'язкові компоненти в їхньому ліпідному складі наявні [37–43]. Порівняно з клітинами-продуцентами склад більшості позаклітинних везикул є збагаченим на сфінгомелін, холестерин, цераміди, фосфатидилсерин, фосфатидилінозитол, фосфатидні кислоти, глікосфінголіпіди та гексозилцераміди.

Незважаючи на свій статус відносно молодій галузі, дослідження позаклітинних везикул вже радикально змінили наше уявлення щодо нормальної фізіології та патофізіології багатьох систем органів. Зокрема, стає зрозумілим механізм, за яким на розвиток МС та діабету, так само як і на гомеостаз глюкози, можливо, впливає β -клітина.

Кілька досліджень були присвячені ролі позаклітинних везикул у розвитку резистентності до інсуліну та МС [41–43]. МС і цукровий діабет призводять до змін кількості та складу циркулюючих позаклітинних везикул, які мають здатність впливати на органи-мішені на системному рівні.

Зокрема, було встановлено, що позаклітинні везикули, вироблені β -клітинами підшлункової залози, здатні до регулювання фізіологічних і патологічних реакцій β -клітин на стрес, включаючи проліферацію β -клітин й апоптоз [41–43]. Позаклітинні везикули, вироблені β -клітинами, також здатні взаємодіяти з імунними клітинами та сприяти активації аутоімунних процесів, які викликають або поширюють процеси запалення та загибелі β -клітин під час розвитку цукрового діабету.

Позаклітинні везикули, продуковані адипоцитами жирової тканини, сприяли розвитку хронічного запалення та інсулінорезистентності, пов'язаної з ожирінням і МС, шляхом впливу на інші адипоцити, гепатоцити та м'язові клітини. Циркулюючі позаклітинні везикули можуть також служити як біомаркери метаболічних розладів та ускладнень, пов'язаних з діабетом [41–43].

Враховуючи здатність до продукції позаклітинних везикул більшістю клітин в організмі людини та їхню роль у процесах міжклітинної комунікації, не дивно, що дані утворення можуть спри-

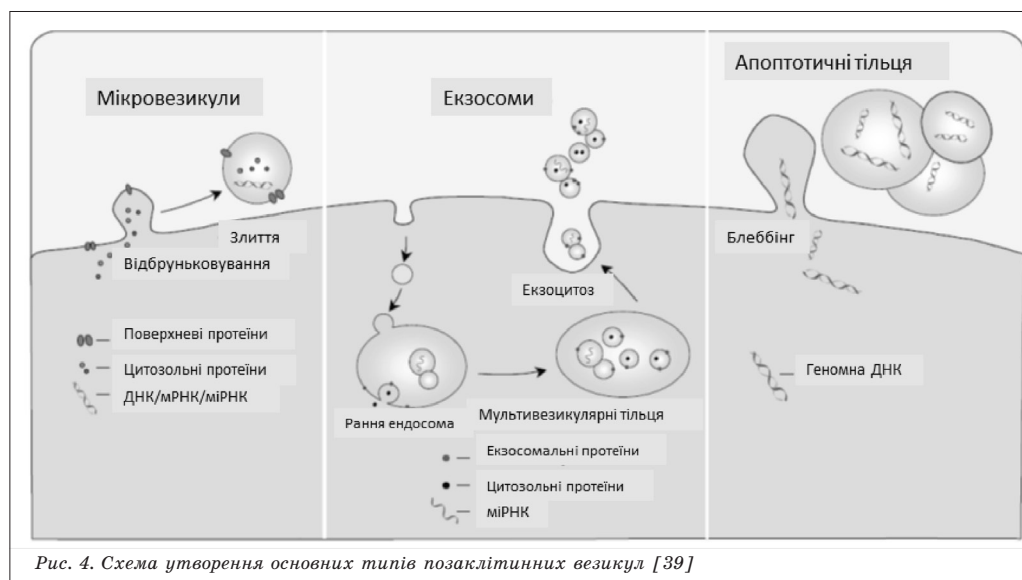


Рис. 4. Схема утворення основних типів позаклітинних везикул [39]

Основні характеристики позаклітинних везикул різних типів [40]

Показник	Екзосоми	Мікроевезикули	Апоптотичні тілця
Розміри	40–100 нм	100–1000 нм	1000–5000 нм
Маркерні молекули	CD63, CD9, Alix, та TSG101	Анексин V, інтегрин, селектин, флотиллін-2	Анексин, ДНК, гістони
Шляхи утворення	Злиття мультивезикулярних тілець з плазматичними мембранами	Угинання мембрани	Зменшення розмірів клітин та смерть клітин
Вміст	Протеїни, РНК та міРНК	Протеїни, РНК та міРНК мембрано-проникні	Органели клітин, протеїни, РНК та міРНК
Методи дослідження	FACS із CD68 захопленням, електронна мікроскопія, Вестерн блотт для маркерів збагачення екзосомами	FACS та електронна мікроскопія	FACS та електронна мікроскопія
Методи виділення	Ультрацентрифугування (100,000–200,000 g), преципітація, ультрацентрифугування в градієнті щільності, імунопреципітація (ExoQuick)	Ультрацентрифугування (10,000–60,000 g)	Немає стандартизованих методів
Механізм вивільнення	Екзоцитоз з мультивезикулярних тілець	Відшнуровування від плазматичної мембрани	Зменшення розмірів клітин й угинання плазматичної мембрани під час смерті клітин

яти комплексній мультиорганній регуляції вивільнення інсуліну та контролю за гомеостазом глюкози [41–43].

Збільшені рівні циркулюючих позаклітинних везикул були відзначені також в експериментальних моделях ожиріння та інсулінорезистентності [41–43]. У щурів застосування раціону з високим вмістом жиру збільшило рівні продукції фосфатидилсерин-позитивних позаклітинних везикул лейкоцитами, ендотеліальними клітинами та тромбоцитами. Цікаво, що обробка серцевих ендотеліальних клітин за умов ожиріння циркулюючими позаклітинними везикулами збільшує експресію ендотеліальними клітинами молекул адгезії 1 і продукування активних форм кисню, що свідчить про те, що циркулюючі позаклітинні везикули можуть сприяти розвитку серцево-судинних ускладнень, пов'язаних з ожирінням [44].

У декількох дослідженнях були вивчені циркулюючі позаклітинні везикули в

осіб з ожирінням, МС та/або діабетом [45]. Тяжке ожиріння збільшувало рівні циркулюючих позаклітинних везикул, незалежно від наявності чи відсутності інших ознак МС [46]. Профілі міРНК циркулюючих позаклітинних везикул 219 пацієнтів з МС, діабетом II типу, гіперхолестеринемією або гіпертензією показали, що кожне порушення має власний специфічний профіль [47].

В цілому встановлено, що EVs, продуковані β-клітинами підшлункової залози, здатні регулювати фізіологічні та патологічні відповіді на стрес β-клітин, включно з проліферацією β-клітин та апоптозом; взаємодіяти з клітинами імунної системи й активувати в такий спосіб автоімунні процеси, які у свою чергу посилюють запалення та деструкцію β-клітин у ході розвитку діабета.

Позаклітинні везикули клітин адипозної тканини здатні регулювати процеси розвитку хронічного запалення та інсулінорезистентності за умов ожирін-

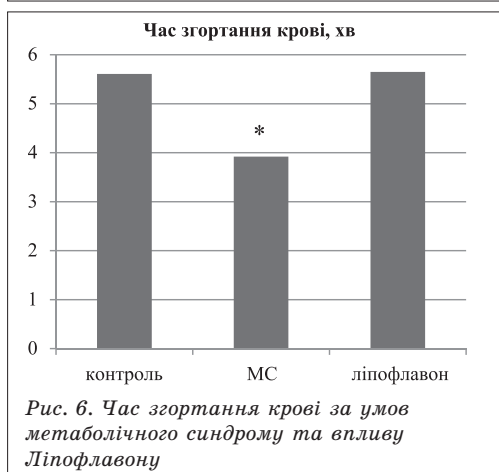
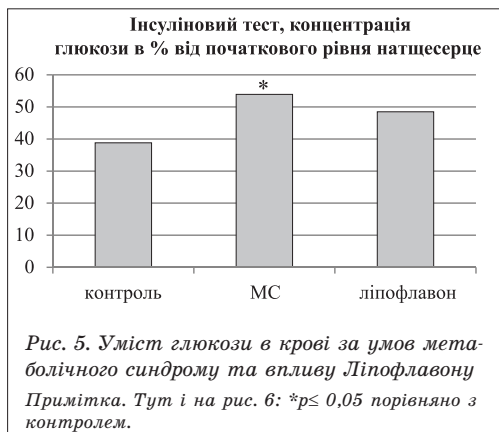
ня та МС і взаємодіяти з іншими клітинами адипозної тканини, печінки та м'язів у ході розвитку МС, змінюючи їхній функціональний стан.

Наслідками розгорнутого вивчення позаклітинних везикул є суттєвий перегляд наукових уявлень стосовно нормальної патології та патофізіології багатьох органів та систем, покращення специфічності біомаркерів шляхом ідентифікації клітин-продуцентів і клітин-мішеней для системних EVs, поява перспектив потенційного терапевтичного застосування EV-вмісних лікарських засобів (наприклад, створення препаратів, що пригнічують автоімунні реакції, чи антиапоптотичних препаратів для β -клітин).

Враховуючи значну роль екзосом у процесах розвитку МС видається перспективним пошук засобів корекції МС серед препаратів на основі штучних моделей позаклітинних везикул – ліпосом. Варіюючи склад їхніх мембранних компонентів та інтрамембранного вмісту, можна досягати цілеспрямованого впливу на конкретні таргетні популяції клітин в організмі. Нами були проведені пілотні дослідження в цьому напрямі з ліпосомальним препаратом Ліпофлавоном, які показали обнадійливі результати щодо корекції низки показників ліпідного обміну та гемореологічного статусу організму за умов МС у щурів (рис. 5–6). Видається дуже перспективним продовження таких досліджень на тваринах ювенільного віку, особливо ефектів ліпосомальних препаратів різного вмісту на репродуктивну систему за умов моделювання МС.

Висновки

Подальші дослідження механізмів виділення позаклітинних везикул, визначення їхніх клітин-мішеней і взаємодії між клітиною та везикулами допоможуть



краще зрозуміти вплив даних утворень на нормальну фізіологію β -клітин, дисфункцію β -клітин та системну резистентність до інсуліну. Визначення клітин-продуцентів та клітин-мішеней системних позаклітинних везикул покращить специфічність біомаркерів та дасть змогу з'ясувати функціональні ефекти позаклітинних везикул. Можна також передбачити потенційні терапевтичні застосування EVs-опосередкованої доставки толерантних агентів до імунних клітин або протиапоптотичних агентів до β -клітин. Усі ці можливості вказують на EVs як на новий напрям у галузі досліджень діабету.

1. Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations / R. Mayeux // *NeuroRx: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. – 2004. – № 1. – P. 182–188.
2. Dong M. What fans the fire: insights into mechanisms of leptin in metabolic syndrome-associated heart diseases / M. Dong, J. Ren // *Current pharmaceutical design*. – 2014. – V. 20. – P. 652–658.
3. Adiponectin and the metabolic syndrome: mechanisms mediating risk for metabolic and cardiovascular disease / C. Lara-Castro, Y. Fu, B. H. Chung, W. T. Garvey // *Current opinion in lipidology*. – 2007. – № 18. – P. 263–270.
4. Adiponectin and metabolic syndrome / Y. Matsuzawa, T. Funahashi, S. Kihara, I. Shimomura // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2004. – № 24. – P. 29–33.

5. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome / M. Ryo, T. Nakamura, S. Kihara [et al.] // *Circulation journal :official journal of the Japanese Circulation Society.* – 2004. – № 68. – P. 975–981.
6. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus / J. Spranger, A. Kroke, M. Mohlig [et al.] // *Lancet.* – 2003. – V. 361. – P. 226–228.
7. *Santaniemi M.* plasma adiponectin concentration is an indicator of the metabolic syndrome / M. Santaniemi, Y. A. Kesaniemi, O. Ukkola // *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies.* – 2006. – V. 155. – P. 745–750.
8. Ghrelin receptor signaling: a promising therapeutic target for metabolic syndrome and cognitive dysfunction / W. N. Cong, E. Golden, N. Pantaleo [et al.] // *CNS & neurological disorders drug targets.* – 2010. – V. 9. – P. 557–563.
9. Ghrelin and lipid metabolism: key partners in energy balance / L. Varela, M. J. Vazquez, F. Cordido [et al.] // *Journal of molecular endocrinology.* – 2011. – V. 46. – P. R43–63.
10. Ghrelin in diabetes and metabolic syndrome / L. Pulkkinen, O. Ukkola, M. Kolehmainen, M. Uusitupa // *International journal of peptides.* – 2010. – Article ID 248948, 11 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2010/248948>
11. Low plasma ghrelin concentration is an indicator of the metabolic syndrome / O. Ukkola, S. M. Poynko, Y. Antero Kesaniemi // *Annals of medicine.* – 2006. – V. 38. – P. 274–279.
12. *Ukkola O.* Ghrelin and metabolic disorders / O. Ukkola // *Current protein & peptide science.* – 2009. – V. 10. – P. 2–7.
13. *Ukkola O.* Ghrelin and the metabolic balance / O. Ukkola // *Journal of endocrinological investigation.* – 2005. – V. 28. – P. 849–852.
14. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk / I. Juhan-Vague, M. C. Alessi, A. Mavri, P. E. Morange // *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* – 2003. – V. 1. – P. 1575–1579.
15. Inverse relationship between adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 in metabolic syndrome patients / S. Bilgili, A. C. Celebiler, A. Dogan, B. Karaca // *Endocrine regulations.* – 2008. – V. 42. – P. 63–68.
16. Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor level, plasma insulin level, and relative body weight in normal and obese subjects / P. Vague, I. Juhan-Vague, M. F. Aillaud [et al.] // *Metabolism: clinical and experimental.* – 1986. – V. 35. – P. 250–253.
17. Relation between uric acid and metabolic syndrome in subjects with cardiometabolic risk / H. A. Silva, J. C. Carraro, J. Bressan, H. H. Hermsdorff // *Einstein.* – 2015. – V. 13. – P. 202–208.
18. Analysis of the relationship between fasting serum uric acid and the insulin sensitivity index in a population-based sample of 380 young healthy Caucasians / J. O. Clausen, K. Borch-Johnsen, H. Ibsen, O. Pedersen // *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies.* – 1998. – V. 138. – P. 63–69.
19. Relations of hyperuricemia with the various components of the insulin resistance syndrome in young black and white adults: the CARDIA study. Coronary Artery Risk Development in Young Adults / W. Rathmann, E. Funkhouser, A. R. Dyer, J. M. Roseman // *Annals of epidemiology.* – 1998. – V. 8. – P. 250–261.
20. Decreases in serum uric acid by amelioration of insulin resistance in overweight hypertensive patients: effect of a low-energy diet and an insulin-sensitizing agent / S. Tsunoda, K. Kamide, J. Minami, Y. Kawano // *American journal of hypertension.* – 2002. – V. 15. – P. 697–701.
21. Maladaptive immune and inflammatory pathways lead to cardiovascular insulin resistance / A. R. Aroor, S. McKarns, V. G. Demarco [et al.] // *Metabolism: clinical and experimental.* – 2013. – V. 62. – P. 1543–1552.
22. *Weiss T. W.* Components of the interleukin-6 transsignalling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness / T. W. Weiss, H. Arnesen, I. Seljeflot // *Metabolism: clinical and experimental.* – 2013. – V. 62. – P. 1008–1013.
23. Angiogenesis, inflammation and endothelial function in postmenopausal women screened for the metabolic syndrome / P. Chedraui, G. S. Escobar, F. R. Perez-Lopez [et al.] // *Maturitas.* – 2014. – V. 77. – P. 370–374.
24. *Indulekha K.* High sensitivity C-reactive protein, tumor necrosis factor- α , interleukin-6, and vascular cell adhesion molecule-1 levels in Asian Indians with metabolic syndrome and insulin resistance (CURES-105) / K. Indulekha, J. Surendar, V. Mohan // *Journal of diabetes science and technology.* – 2011. – V. 5. – P. 982–988.
25. *Musialik K.* The influence of chosen adipocytokines on blood pressure values in patients with metabolic syndrome / K. Musialik // *Kardiologia polska.* – 2012. – V. 70. – P. 1237–1242.
26. Adiponectin, IL-10 and metabolic syndrome in obese children and adolescents / V. Calcaterra, M. De Amici, C. Klersy [et al.] // *Acta bio-medica : Atenei Parmensis.* – 2009. – V. 80. – P. 117–123.
27. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women / K. Esposito, A. Pontillo, F. Giugliano et al. // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* – 2003. – V. 88. – P. 1055–1058.
28. Association of metabolic syndrome with serum interleukin-10 and high sensitive C reactive protein(hs-CRP) in old men / L. X. Chen, S. D. Zhang, L. L. Zhu, M. Sun // *Zhong nan da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Central South University Medical sciences.* – 2008. – V. 33. – P. 970–974.

29. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome / K. M. Choi, O. H. Ryu, K. W. Lee [et al.] // *Diabetes research and clinical practice*. – 2007. – V. 75. – P. 235–240.
30. Interleukin-10 associates with adiponectin predominantly in subjects with metabolic syndrome / M. Nishida, T. Moriyama, Y. Sugita, K. Yamauchi-Takahara // *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. – 2007. – V. 71. – P. 1234–1238.
31. Circulating oxidized low-density lipoproteins and arterial elasticity: comparison between men with metabolic syndrome and physically active counterparts / H. Pohjantahti-Maaroos, A. Palomaki, P. Kankkunen [et al.] // *Cardiovascular diabetology*. – 2010. – V. 9. – P. 41–48.
32. Sigurdardottir V. Circulating oxidized low-density lipoprotein (LDL) is associated with risk factors of the metabolic syndrome and LDL size in clinically healthy 58-year-old men (AIR study) / V. Sigurdardottir, B. Fagerberg, J. Hulthe // *Journal of internal medicine*. – 2002. – V. 252. – P. 440–447.
33. Relation of circulating oxidized LDL to obesity and insulin resistance in children / A. S. Kelly, D. R. Jacobs, A. R. Sinaiko [et al.] // *Pediatric diabetes*. – 2010. – V. 11. – P. 552–555.
34. Paraoxonase (PON)-1 activity in overweight and obese children and adolescents: association with obesity-related inflammation and oxidative stress M. / Krzystek-Korpacka, E. Patryn, K. Hotowy [et al.] // *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*. – 2013. – V. 22. – P. 229–236.
35. Low levels of serum paraoxonase activities are characteristic of metabolic syndrome and may influence the metabolic-syndrome-related risk of coronary artery disease / N. Martinelli, R. Micaglio, L. Consoli [et al.] // *Experimental diabetes research*. – 2012. – P. 231–502.
36. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population / K. Srikanthan, A. Feyh, Y. Visweshwar [et al.] // *International Journal of Medical Sciences*. – 2016. – V. 13, № 1. – P. 25–38. doi: 10.7150/ijms.13800
37. Yellon D. M. Exosomes Nanoparticles Involved in Cardioprotection? / D. M. Yellon, S. M. Davidson // *Circ Res*. – 2014. – V. 114. – P. 325–332.
38. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells / H. Valadi, K. Ekström, A. Bossios [et al.] // *Nat Cell Biol*. – 2007. – V. 9. – P. 654–659.
39. Microvesicles and exosomes: new players in metabolic and cardiovascular disease / C. Lawson, J. M. Vicencio, D. M. Yellon, S. M. Davidson // *Journal of Endocrinology*. – 2016. – V. 228. – P. R57–R71.
40. Khalyfa A. Exosomal miRNAs as potential biomarkers of cardiovascular risk in children / A. Khalyfa, D. Gozal // *Journal of Translational Medicine*. – 2014. – V. 12. – P. 162–174 <http://www.translational-medicine.com/content/12/1/162>
41. The Lin28/let-7 axis regulates glucose metabolism / H. Zhu, N. Shyh-Chang, A. V. Segrè [et al.] // *Cell*. – 2011. – V. 147. – P. 81–94.
42. Zimmet P. Global and societal implications of the diabetes epidemic / P. Zimmet, K. Alberti, J. Shaw // *Nature*. – 2001. – V. 414. – P. 782–787.
43. World Health Organization. Global Status Report on Noncommunicable Diseases. – 2014. – Geneva, Switzerland: World Health Organization.
44. Long-term high fat feeding of rats results in increased numbers of circulating microvesicles with pro-inflammatory effects on endothelial cells / L. F. Heinrich, D. K. Andersen, M. E. Cleasby, C. Lawson // *Br J Nutr*. – 2015. – V. 113. – P. 1704–1711.
45. Plasma exosome microRNA profiling unravels a new potential modulator of adiponectin pathway in diabetes: effect of glycemic control / D. Santovito, V. De Nardis, P. Marcantonio [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2014. – V. 99. – P. E1681–E1685.
46. Microparticle increase in severe obesity: not related to metabolic syndrome and unchanged after massive weight loss / A. Stepanian, L. Bourguignat, S. Hennou [et al.] // *Obesity (Silver Spring)*. – 2013. – V. 21. – P. 2236–2243.
47. Circulating miRNA profiles in patients with metabolic syndrome / D. S. Karolina, S. Tavintharan, A. Armugam [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2012. – V. 97. – P. E2271–E2276.

Л. Б. Бондаренко

Біомаркери метаболічного синдрому: нові аспекти

Огляд літератури узагальнює інформацію щодо наявних біомаркерів метаболічного синдрому (МС). Серйозність наслідків МС вимагає пошуку нових підходів до виявлення осіб і груп населення, які найбільше ризикують. Навіть незважаючи на інтенсивні дослідження все ще немає високоспецифічного маркера МС. Основним ускладненням є необхідність одночасного застосування одразу кількох показників. Останнім часом увага дослідників була приділена детальному дослідженню позаклітинних везикул, їхній ролі в розвитку патологічних процесів, зокрема МС, та можливості застосування даних утворень як біомаркерів нового покоління. Показано, що подальші дослідження механізмів виділення позаклітинних везикул (EVs), визначення їхніх клітин-мішеней і взаємодії між клітиною та везикулами допоможуть краще зрозуміти вплив даних утворень на нормальну фізіологію β-клітин, дисфункцію β-клітин і системну резистентність до інсуліну. Визначення клітин-продуцентів і клітин-мішеней системних позаклітинних везикул покращить специфічність біомаркерів і дасть змогу з'ясувати функціональні ефекти позаклітинних везикул. Можна також передбачити потенційні

терапевтичні застосування EVs-опосередкованої доставки толерантних агентів до імунних клітин або протиапоптотичних агентів до β -клітин. Усі ці можливості вказують на EVs як на новий напрям у галузі досліджень діабету.

Наведено результати власних пілотних досліджень засобів корекції МС на основі штучних моделей позаклітинних везикул – ліпосом.

Ключові слова: метаболічний синдром, біомаркери, позаклітинні везикули, ліпосоми

Л. Б. Бондаренко

Биомаркеры метаболического синдрома: новые аспекты

Обзор литературы обобщает информацию относительно имеющихся биомаркеров метаболического синдрома (МС). Серьезность последствий МС требует поиска новых подходов к выявлению лиц и групп населения, которые подвержены наибольшему риску. Даже невзирая на интенсивные исследования, все еще нет высокоспецифического маркера МС. Основной проблемой является необходимость одновременного применения нескольких показателей. В последнее время внимание исследователей было сосредоточено на детальном изучении внеклеточных везикул (EVs), их роли в развитии патологических процессов, в частности МС, и возможности использования данных образований в качестве нового поколения биомаркеров. Показано, что дальнейшие исследования механизмов выделения внеклеточных везикул, определения их клеток-мишеней и взаимодействий между клеткой и везикулами помогут лучше понять влияние данных образований на нормальную физиологию β -клеток, дисфункцию β -клеток и системную резистентность к инсулину. Определение клеток-продуцентов и клеток-мишеней системных внеклеточных везикул улучшит специфичность биомаркеров и даст возможность выяснить функциональные эффекты внеклеточных везикул. Можно также предполагать потенциальное терапевтическое использование EVs -опосредованной доставки толерантных агентов к иммунным клеткам или противоапоптотических агентов к β -клеткам. Все эти возможности указывают на EVs как на новое направление в области исследования диабета.

Приведены результаты собственных пилотных исследований средств коррекции МС на основе искусственных моделей внеклеточных везикул – липосом.

Ключевые слова: метаболический синдром, биомаркеры, внеклеточные везикулы, липосомы

L. B. Bondarenko

Biomarkers of metabolic syndrome: new aspects

The review summarizes information on the available metabolic syndrome biomarkers. The severity of MS consequences requires the search for new approaches to identifying individuals and groups of people that are most susceptible to risk. Even in spite of intensive research, there is still no highly specific MC marker. The main problem is the need to simultaneous use of several indicators. Recently, the attention of researchers has been focused on extracellular vesicles (EVs) detailed study, their role in the development of pathological processes, in particular MC, investigation and the possible use as a new generation of biomarkers. It has been shown that further studies of the mechanisms of extracellular vesicles production, interactions between the cell and vesicles and their target cells determination will help better understanding these formations role in normal β -cell physiology, β -cell dysfunction, and systemic insulin resistance. The determination of systemic extracellular vesicles cells- producers and target cells will improve the specificity of biomarkers and provide an opportunity to elucidate the functional effects of extracellular vesicles. It is also possible to prioritize the potential therapeutic use of EVs-mediated delivery of tolerant agents to immune cells or anti-apoptotic agents to β -cells. All these opportunities point to EVs as a new trend in the field of diabetes research.

The results of own pilot studies of MS correction preparations on the basis of extracellular vesicles artificial models – liposomes – are presented.

Key words: metabolic syndrome, biomarkers, extracellular vesicles, liposomes

Надійшла: 27 грудня 2017 р.

Контактна особа: Бондаренко Лариса Борисівна, доктор біологічних наук, відділ токсикології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 457 78 65. Електронна пошта: larabon04@yahoo.com

В. В. Цивунін¹, С. М. Дроговоз¹, С. Ю. Штриголь¹, А. Л. Штробля²

Безпечна та ефективна альтернатива допінгу: використання карбокситерапії в спорті

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків²Державний вищий навчальний заклад «Ужгородський національний університет»

Ключові слова: карбокситерапія, спорт, спортивна медицина, допінг, альтернатива

Спортивні досягнення неможливі без значних фізичних навантажень під час тренування та змагань, що висуває організму людини надзвичайно високі вимоги. Останні створюють постійну необхідність пошуку та впровадження засобів для підвищення та відновлення фізичної працездатності, попередження перенавантаження спортсмена [1, 2]. Тому сьогодні спорт не може обійтись без можливостей фармакології. Багато років існують заборонені фармакологічні речовини, що штучно підвищують фізичну працездатність, витривалість та, як наслідок, результативність змагань, тим самим створюючи нечесну перевагу спортсмена над суперниками. Але в сучасній фармакології є також незаборонені препарати та методи, які сприяють відновленню організму, гальмуючи фактори, що лімітують працездатність людини [1–4]. Завданням сучасної спортивної фармакології є пошук і впровадження в спортивній медицині нових безпечних та ефективних методів і засобів, які могли б офіційно застосовуватися з метою відновлення та підвищення фізичних можливостей і працездатності.

Мета дослідження – узагальнення та аналіз інформації щодо можливого використання карбокситерапії в спорті.

Ця проблема в спорті та фармакології не є новою. З прогресом фармакології створювалися та продовжують створюватися препарати не лише для лікування та попередження захворювань, але й для підвищення фізичної витривалості та опору організму до фізичного навантаження та дії різних несприят-

ливих факторів (актопротектори, адаптогени, антигіпоксанти, антиоксиданти). З часом ці лікарські засоби почали використовувати в здорової людини для підвищення її стійкості за тяжких та несприятливих умов, таких як військові конфлікти, гірські, водні та підземні роботи, тривалі експедиції, за різких змін температури, атмосферного тиску тощо. Не став винятком і професійний спорт, де успіх та, як наслідок, визнання та добробут спортсмена напряму залежать від результатів його фізичної підготовки. Більшість спортсменів з цією метою вдається до вживання заборонених фармакологічних засобів або застосування методів, які не завжди мають сприятливий профіль нешкідливості [5, 6]. Застосування таких фармакологічно активних засобів наражає на небезпеку здоров'я спортсменів, крім того, це суперечить духу спорту та підриває довіру до нього суспільства, адже перетворює чесні спортивні змагання на змагання хіміків та фармакологів.

З давніх часів ці проблеми допінгу та фармакології були тісно пов'язані. Так, ще античні олімпійські атлети використовували певні «чудодійні» трави. Найбільшого розповсюдження в професійному спорті використання допінгу досягло в 50–60 роки минулого століття. Ним зловживали як у велосмаганнях, важкій і легкій атлетиці, плаванні, так і в інших видах спорту [3, 5]. Однак після прогресування випадків тяжких ускладнень та зафіксованих смертей внаслідок використання таких фармакологічних речовин Міжнародний Олімпійський Комітет та Міжнародні спортивні федерації наклали заборону на використання окремих препаратів та чітко визначили дефініцію допінгу [6, 7].

Допінгом вважається використання здоровими особами чужорідних організму речовин з метою штучного й несправедливого покращання досягнень у змаганнях. Таким чином, допінги – це лікарські препарати або засоби, які застосовуються спортсменами для штучного, примусового підвищення працездатності в період учбово-тренувального процесу та під час змагань [6, 7].

Встановлено, що залежно від виду спорту в різних країнах застосовують такі групи біологічно активних (лікарських) речовин, що нині верифіковані як допінг [6, 7] (табл. 1).

Як свідчать дані таблиці 1, жоден клас найпоширеніших речовин-допінгів не позбавлений серйозних ускладнень, що супроводжують навіть нетривалий їхній прийом.

Контроль за невикористанням допінгу покладений на Всесвітню антидопінгову агенцію (ВАДА), яка визначає заборонені речовини та методи для використання в спорті [6, 7].

Список речовин-допінгів – це міжнародний стандарт, що визначає, які субстанції та методи заборонені в спорті. У списку також наведені речовини та методи, які заборонені для використання в окремих видах спорту. Кожного року ВАДА публікує нову версію списку з оновленим переліком заборонених речовин [6].

До *заборонених субстанцій* у першу чергу належать андрогени, анаболічні стероїди та їхні аналоги, гормони пептидної будови, фактори росту та їхні аналоги, β_2 -агоністи (β_2 -адреноміметики), антагоністи гормонів, модулятори метаболізму, діуретики та маскувальні агенти, стимулятори ЦНС, алкоголь [7]. *Заборонені методи* включають в себе маніпуляції з кров'ю та її компонентами, хімічні та фізичні маніпуляції, генний допінг.

Механізм дії допінгів є полівалентним. Ключові ланки впливу на організм заборонених речовин і методів наведено в таблиці 2.

Таблиця 1

Біологічно активні речовини, які використовують у споріднених видах спорту як допінг, та ускладнення, що вони викликають

Споріднені види спорту	Біологічно активні речовини, що використовують як допінг	Ускладнення
1. Швидкісно-силові види: важка атлетика, штовхання ядра, культуризм, спринтерські дистанції в легкій атлетиці, плаванні, ковзанярському спорті, лижних перегонах	Анаболічні стероїди, соматотропін, гонадотропін, амфетамін, діуретики тощо	Зміни обміну речовин та гормонального профілю, маскулінізація в жінок і вірилізація в чоловіків
2. Види спорту з переважним проявом витривалості: біг, плавання, лижні та велосипедні перегони, ковзанярський спорт (довгі дистанції)	Анаболічні стероїди, соматотропін, гонадотропін, автокров (кров'яний допінг), психостимулятори тощо	Втрата орієнтації та свідомості, порушення гормонального статусу, смертельні випадки
3. Ігрові види: футбол, баскетбол, регбі, бейсбол, хокей з м'ячем і з шайбою, гольф тощо	Алкоголь, кокаїн, героїн, амфетамін, марихуана тощо	Втрата свідомості, токсичні ефекти, алкоголізм, летальні випадки
4. Складнокоординаційні види спорту: стрибки у висоту та у воду, фігурне катання, гімнастика, фехтування тощо	Алкоголь, наркотичні аналгетики, транквілізатори, бета-блокатори тощо	Наркотична залежність, алкоголізм тощо
5. Єдиноборства: усі види боротьби, бокс, східні єдиноборства тощо	Наркотичні аналгетики, марихуана, алкоголь	Наркотична залежність, алкоголізм тощо

**Механізм дії різних класів заборонених речовин і методів,
які використовують як допінг**

Заборонені речовини/ методи	Механізм дії
Стимулятори ЦНС	Зміни обміну речовин та гормонального профілю, маскулінізація в жінок і вірилізація в чоловіків
Симпатоміметики	Викликають помилкове відчуття відсутності втоми. Активують симпатoadреналову систему, розширюють бронхи та посилюють роботу серця, тим самим покращуючи доставку кисню до головного мозку та працюючих м'язів; стимулюють розпад глікогену та призводять до збільшення рівня глюкози в крові – головного енергетичного субстрату організму [8]
β_2 -агоністи (β_2 -адrenomіметики)	Втрата свідомості, токсичні ефекти, алкоголізм, летальні випадки Розширюють бронхи та посилюють вентиляцію легенів, тим самим покращуючи насичення крові киснем та його доставку до головного мозку та працюючих м'язів [8, 9]
Анаболічні стероїди та їхні аналоги	Збільшують об'єм м'язів внаслідок стимуляції синтезу білка, креатинфосфату та АТФ. Посилюють киснево-транспортну функцію крові та клітинного дихання [8, 10]
Гормони пептидної будови (соматотропін, кортикотропін, інсулін тощо) та їхні аналоги	Стимулюють синтез білка, посилюють утилізацію глюкози тканинами [9, 10]
Фактори росту (еритропоетин, інсуліноподібний фактор росту тощо) та їхні аналоги	Стимулюють продукцію, ріст і диференціацію компетентних клітин, зокрема, еритроцитів, що призводить до підвищення вмісту кисню в одиниці об'єму крові та, відповідно, до збільшення кисневої ємності та надходження кисню до тканин [6, 8]
Діуретики та маскувальні агенти	Посилюють виведення з організму інших заборонених препаратів або перешкоджають їхній ідентифікації в біологічній пробі. Виводять з організму воду, знижують масу тіла, що критично важливо для окремих видів спорту [6, 8, 9]
Модулятори метаболізму (зокрема мельдоній)	Стимулюють ліполіз і засвоєння жирних кислот клітинами. Стимулюють глікогеноліз і засвоєння глюкози клітинами. Активують енергетичний обмін [10]
Автотрансфузія крові	Збір 400 мл крові спричинює легку кисневу недостатність, що сприяє стимуляції кровотворення вище вихідного рівня. Окрім збільшення вмісту в крові гемоглобіну й еритроцитів, відбувається підвищення імунітету, активація наднирників. У разі зберігання крові понад 10 днів, у ній утворюються БАР з біостимулювальними властивостями. Вливання такої крові в день змагання різко підвищує аеробну продуктивність і результат спортивних змагань [4, 6]

На противагу переліченим забороненим речовинам і методам існують фармакологічні препарати – недопінгові засоби – застосування яких у спортсменів не лімітоване. На відміну від допінгів, ці засоби не викликають надмірне непродуктивне збільшення фізичної витривалості та працездатності, не

створюють штучної переваги спортсмена порівняно з атлетами, які не приймають цих препаратів. Недопінгові засоби для використання в спортивній медицині призначені не для посилення чи пригнічення певних біохімічних, біофізичних чи фізіологічних реакцій, а виключно для їхньої модуляції та

створення сприятливих метаболічних і гомеостатичних умов для адаптації та реалізації існуючого потенціалу спортсмена, без штучного його підвищення. Це здебільшого препарати з помірно метаболітотропною, антиоксидантною, антигіпоксантиною та актопротекторною дією, адаптогени, як-от, фосфокреатин, карнітин, інозин, АТФ, калію оротат, тіотриазолін, препарати селену та цинку, ліпоєва кислота, вітаміни групи В, токоферол, аскорбінова кислота тощо [4, 8–10].

Завданням сучасної спортивної фармакології є пошук і впровадження в практику спортивної медицини нових лікарських засобів, дієтичних добавок, а також методів, які сприятимуть відновленню організму після спортивних навантажень, усуваючи вплив факторів, що обмежують працездатність спортсменів, та ліквідують негативні стани, пов'язані з фізичним перенавантаженням. Ці засоби або методи не повинні створювати штучні переваги спортсмена порівняно з іншими атлетами та мають бути офіційно дозволеними для застосування в спортивній медицині.

Безпечною та ефективною, а головне – не забороненою альтернативою існуючим допінгам, є застосування вуглекислого газу – неінвазивна (ванни, інгаляції) та інвазивна (підшкірне або внутрішньошкірне введення CO_2) карбокситерапія.

Роль CO_2 як природного стимулятора дихання полягає в тому, що за щонайменшої зміни його концентрації (на 0,1 %) вмикаються численні механізми швидкого повернення концентрації CO_2 до фізіологічної норми, оскільки організм є системою, що самовідновлюється та саморегулюється [11].

Вуглекислий газ є найважливішим продуктом клітинного дихання, тому в організмі існує безліч сенсорів, що регулюють його концентрацію. Отже, зсув рівня CO_2 у будь-який бік від фізіологічних значень запускає численні механізми *адаптації*. Зокрема, зниження парціального тиску CO_2 в альвеолярному повітрі призводить до розвитку гіпокапнії, зменшення збудливості дихального центру та різкого пригнічення

його інспіраторної активності аж до зупинки дихання (апноє). Збільшення концентрації CO_2 , навпаки, є сигналом для посилення інтенсивності дихання та кровообігу; зменшується напруга та спазм м'язів, що сприяє знеболювальному та протизапальному ефектам, підвищується опірність організму до дії несприятливих чинників [11, 12].

Усі клітини організму (нейрони, гепатоцити, кардіоміоцити, хондроцити, епітеліоцити тощо) незалежно від функцій, які вони виконують, виділяють CO_2 як кінцевий продукт біохімічних реакцій їхньої життєдіяльності. Процес видалення CO_2 з організму через легені сприяє збільшенню оксигенації гемоглобіну, відповідно збільшується його концентрація в тканинах, що викликає звуження судин з затримкою локального кровообігу, тим часом як за надлишку CO_2 (гіперкапнії), навпаки, розширюються судини з посиленням доставки кисню та поживних речовин до тканин. Ці процеси забезпечують фізіологічний газообмін O_2 і CO_2 в організмі [11–14].

За гіпоксії, у тому числі, що виникає на тлі надмірних фізичних навантажень, внаслідок включення резервного анаеробного дихання як ефективного засобу отримання енергії під час короткочасних періодів інтенсивної напруги (коли доставка кисню до м'язів недостатня для підтримки аеробного метаболізму) у м'язах атлетів накопичуються недоокиснені продукти обміну, зокрема, молочна та піровиноградна кислоти, що спричиняють больову реакцію. За таких умов карбокситерапія через ліквідацію гіпоксії призводить до зменшення утворення молочної кислоти, усуваючи біль [4, 13].

З вищенаведеного випливає, що механізм карбокситерапії полягає у вмиканні основних процесів адаптації гомеостазу, тобто сприяє переходу організму на більш вигідні шляхи оптимізації обміну речовин. У результаті посилюються всі види обміну (вуглеводний, жировий, білковий, електролітний), репаративні та метаболічні процеси в органах. За рахунок відновлення оксигенації та посилення обмінних процесів на клітинному рівні відбувається

стимуляція росту фібробластів, які є продуцентами не лише еластину, гіалуронової кислоти та колагену, але й інтерферонів, функція ж останніх пов'язана зі специфічними рецепторами на поверхні клітин. У результаті індукуються складні внутрішньоклітинні сигнальні механізми та відбувається швидка активація транскрипції генів: стимульовані інтерферонами гени модулюють потужні фізіологічні та біохімічні ефекти включно з пригніченням проліферації клітин, що пригнічує ріст злоякісних пухлин і стимулює захисні властивості організму. Крім того, інтерферони стимулюють продукцію кортизолу, який має проти-запальну дію [11–13, 15].

Отже, здатність карбокситерапії впливати на великий патологічний симптомокомплекс може бути пояснена участю CO_2 у багатьох метаболічних і рефлекторних процесах системної саморегуляції, тобто CO_2 виступає як біохімічний пейсмейкер, сигнальна молекула, що індукуює каскади вищеописаних механізмів у всіх системах організму (дихальній, нервовій, серцево-судинній, видільній, кровотворній, імунній, гуморальній тощо) та відіграє важливу роль у підтримці гомеостазу [12, 15].

Оскільки вуглекислота є фізіологічним стимулятором дихання, у медичній практиці використовують суміш O_2 (93–95 %) і CO_2 (5–7 %) під назвою карбоген (приклад неінвазивної карбокситерапії). За інгаляції карбогену здоровій людині об'єм дихання збільшується в 5–7 разів. Збудження дихання відбувається, головним чином, завдяки зниженню в дихальному центрі рівня рН і накопиченню іонів H^+ . Вважають, що іони водню стимулюють клітини дихального центру не безпосередньо, а через специфічні хеморецептори (центральні), розміщені в довгастому мозку. Вагоме значення в реалізації дії CO_2 мають і рефлекси з рецепторів синокаротидної зони (периферичні). Стимулювальний вплив CO_2 на дихання розвивається протягом перших 5–6 хв, покращується як загальний, так і мозковий кровообіг [11–13, 15].

Ще одним прикладом неінвазивної карбокситерапії є метод В. К. Бутейка – комплекс дихальних вправ [16]. Ефективність даного методу верифіковано в низці рандомізованих клінічних досліджень. Метод В. К. Бутейка пропонує корекцію дихання за рахунок зменшення частоти та амплітуди дихальних рухів: повільне неглибоке дихання з затримками актив вдоху та видошу призводить до накопичення CO_2 у крові та реалізації його ефектів (антигіпоксантина, антиоксидантна дія тощо). Жодного негативного впливу на об'єм легеневого дихання за використання методу В. К. Бутейка не встановлено [17–19].

Вуглекислотні ванни як приклад неінвазивної карбокситерапії корисні не лише для хворих, але й здорових людей для зміцнення організму в разі великих фізичних та нервових навантажень, підвищення резистентності організму до дії несприятливих чинників навколишнього середовища тощо. Вуглекислотні ванни широко застосовують у спортивній медицині. У разі прийому через 1 год після тренування або за 3 год до наступного тренування вуглекислотні ванни підвищують тонус нервової, дихальної та серцево-судинної систем, покращують обмін речовин, прискорюють виведення молочної кислоти, що сприяє більш швидкому відновленню після фізичних навантажень [12, 15].

Оскільки CO_2 є потужним природним вазодилататором (знижує базальний тонус артеріол і сприяє посиленню кровотоку), процедуру карбокситерапії організм інтерпретує як дефіцит кисню та реагує шляхом збільшення не тільки кровотоку, але й фактора росту ендотелію судин, який стимулює ангіонеогенез, тому в довгостроковій перспективі карбокситерапія покращує кровопостачання тканин. Тому інвазивне (підшкірне) введення CO_2 покращує на тривалий час кровопостачання судин мозку та серця [20]. Інвазивне введення CO_2 діє на мікроциркуляцію в артеріолах та прекапілярних сфінктерах шляхом збільшення швидкості кровотоку в тканинах, а також за рахунок поліпшення лімфатичного дренажу [11, 12, 20].

CO₂, посилюючи обмін речовин у головному мозку, підвищує розумову працездатність та має унікальний ефект, що полягає в елімінації підкіркових застійних вогнищ збудження, оскільки під дією CO₂ зменшується нервова збудливість. У місці введення CO₂ змінює чутливість нервових закінчень, поліпшується трофіка тканин, посилюються місцеві захисні процеси. За рахунок виразної антиоксидантної дії CO₂ підвищується опір організму до несприятливих факторів навколишнього середовища [11, 13, 15].

Локальна дія вуглекислого газу за інвазивної карбокситерапії на обмежену ділянку тканин супроводжується стимуляцією хемосенсорних клітин, збільшенням об'ємного кровотоку, підвищенням швидкості оксигенації в місці введення CO₂. У результаті локальної дії карбокситерапії посилюється еритро- та лімфопоез, що водночас поліпшує перфузію тканин за рахунок дилатації судин, репаративні та метаболічні процеси, відновлює рецепторну чутливість. Тканина в місці ін'єкції CO₂ отримує потужний стимул до регенерації, підкріпленої активізацією власних ресурсів організму. Внаслідок цього вже після кількох процедур карбокситерапії спостерігається реструктуризація тканин, ліквідація гіпоксії, ішемії, посилення виведення продуктів обміну речовин, зокрема, молочної кислоти [12, 15].

Наведені механізми дії CO₂ дають змогу широко використовувати карбокситерапію в спортивній медицині за виникнення станів, що супроводжують-

ся гіпоксією, ішемією тканин, внаслідок та зниженням фізичної працездатності [11, 12, 20].

Висновки

Таким чином, беручи до уваги все вищеперераховане, за будь-якого методичного варіанта застосування карбокситерапії (інвазивна або неінвазивна) за різної послідовності та інтенсивності активуються одні й ті самі механізми саморегуляції, що призводять до відновлення гомеостазу: поліпшується функція зовнішнього дихання та синхронно з цим відбувається авторегуляція тонусу судин. Посилення кровотоку та нормалізація реологічних властивостей крові ліквідує венозний застій, мобілізує анаеробний енергообмін, знижує споживання кисню серцевим м'язом. Поліпшення оксигенації та трофіки тканин стимулює процеси неоваскуляризації, обмін речовин, колагеногенез і прискорює репаративні процеси, посилює виведення молочної кислоти. У результаті цього відбувається швидке відновлення порушеної працездатності, фізичної витривалості атлетів, збільшення їхньої толерантності до надмірних фізичних навантажень. Карбокситерапія є простою та безпечною процедурою. Безпека та нетоксичність методу за використання медичного CO₂ гарантована використанням систем, сертифікованих в Європі та Україні. Усе це обґрунтовує доцільність використання карбокситерапії в спортивній медицині як безпечної та ефективної альтернативи допінгу.

1. Абзалов А. Тема года: спорт и допинг / А. Абзалов, О. Павлова, Д. Нестеров // Теория и практика физической культуры. – 2000. – № 3. – С. 27–38.
2. Захарова С. А. Допинг в спорте: средство или противостояние / С. А. Захарова, Р. Г. Ханафеева // Актуальные проблемы спортивных правоотношений: материалы I Всерос. науч.-практ. конф. – Челябинск : Урал. гос. ун-т физ. культуры, 2010. – С. 79–86.
3. Платонов В. Н. Допинг в спорте и проблемы фармакологического обеспечения подготовки спортсменов / В. Н. Платонов, С. А. Олейник, Л. М. Гунина. – Москва : Советский спорт, 2010. – 308 с.
4. Ходарев С. В. Возможности медицинской реабилитации у детей, занимающихся физической культурой и спортом / С. В. Ходарев, Е. С. Тертышная, А. М. Щекинова // Главный врач. Реабилитация. – 2014. – № 2 (39). – С. 59–66.
5. Литинская Е. А. Допинг в спорте: социально-философский аспект / Е. А. Литинская // Вестн. Волгогр. гос. ун-та. Сер. 7, Филос. – 2011. – № 3 (15). – С. 186–191.
6. World Anti-Doping Code. International Standard. Prohibited List (January 2016). Режим доступу: <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada-2016-prohibited-list-en.pdf>
7. WADA 2016 Prohibited List. Режим доступу: <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada-2016-prohibited-list-summary-of-modifications-en.pdf>

8. Дроговоз С. М. Фармакология в помощь студенту, провизору и врачу: учебник-справочник / С. М. Дроговоз, С. Ю. Штрыголь, Е. Г. Щекина. – Харьков : Титул, 2013. – 900 с.
9. Харкевич Д. А. Фармакология: учебник / Д. А. Харкевич. – 10-е изд., испр., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.
10. Компендиум 2015 – лекарственные препараты; под ред. В. Н. Коваленко. – Киев : МОРИОН, 2015. – 2320 с.
11. Физиологические свойства CO₂ – обоснование уникальности карбокситерапии / С. М. Дроговоз, С. Ю. Штрыголь, А. В. Кононенко [и др.] // Медична та клінічна хімія. – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 112–116.
12. Механизм действия карбокситерапии / С. М. Дроговоз, С. Ю. Штрыголь, А. В. Кононенко [и др.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – № 6 (51). – С. 12–20.
13. Дроговоз С. М. Механизмы действия и фармакотерапевтические возможности карбокситерапии при заболеваниях нервной системы / С. М. Дроговоз, В. И. Кабачный, И. В. Кабачная // Український вісник психоневрології. – 2016. – Т. 24, № 3 (88). – С. 83–86.
14. Hypercapnia improves tissue oxygenation / O. Akca, A. G. Doufas, N. Morioka [et al.] // Anaesthesiology. – 2002. – V. 97 (4). – P. 801–6.
15. Карбокситерапия – альтернатива традиционной фармакотерапии / С. М. Дроговоз, С. Ю. Штрыголь, М. В. Зупанец [и др.] // Клінічна фармація. – 2016. – Т. 20, № 1. – С. 12–17.
16. Бутейко В. К. Теория Бутейко о роли дыхания в здоровье человека: научное введение в метод Бутейко для специалистов / В. К. Бутейко, М. М. Бутейко. – Воронеж : ООО «Общество Бутейко», 2005. – 100 с.
17. Bowler S. D. Buteyko breathing techniques in asthma: a blinded randomised controlled trial / S. D. Bowler, A. Green, C. A. Mitchell // Med J Aust. – 1998. – V. 169 (11–12). – P. 575–8.
18. Buteyko breathing technique for asthma: an effective intervention / P. McHugh, F. Aitcheson, B. Duncan, F. Houghton // NZ Med J. – 2003. – V. 116. – P. 1187.
19. Buteyko breathing technique and asthma in children: a case series / P. McHugh, B. Duncan, F. Houghton // NZ Med J. – 2006. – V. 119. – P. 1234.
20. Clinical evidence of subcutaneous CO₂ insufflations: a systematic review / T. Brockow, T. Hausner, A. Dillner, K. L. Resch // J Alt Complement Med. – 2000. – V. 6. – P. 391–403.

В. В. Цивунін, С. М. Дроговоз, С. Ю. Штрыголь, А. Л. Штробля
Безпечна та ефективна альтернатива допінгу: використання карбокситерапії в спорті

Спортивні досягнення неможливі без значних фізичних навантажень під час тренування та змагань, що висуває організму людини надзвичайно високі вимоги. Останні створюють постійну необхідність пошуку та впровадження засобів для підвищення й відновлення фізичної працездатності, попередження перенавантаження спортсмена. Більшість атлетів з цією метою вдається до вживання заборонених фармакологічних засобів або застосування методів – допінгів. Однак застосування допінгів не лише наражає на небезпеку здоров'я спортсменів, але й суперечить духу спорту. На противагу забороненим речовинам і методам існують недопінгові засоби, застосування яких у спортсменів не лімітоване.

Безпечною та ефективною, а головне – не забороненою альтернативою існуючим допінгам є застосування вуглекислого газу – карбокситерапії. CO₂ є природним стимулятором дихання й як біохімічний пейсмейкер бере участь у багатьох метаболічних і рефлекторних процесах системної саморегуляції в усіх системах організму (дихальній, нервовій, серцево-судинній, видільній, кровотворній, імунній, гуморальній тощо) та відіграє важливу роль у підтримці гомеостазу. Механізм карбокситерапії полягає у вмиканні основних процесів адаптації гомеостазу, тобто сприяє переходу організму на більш вигідні шляхи оптимізації обміну речовин. Надлишок CO₂ (гіперкапінія) призводить до розширення судин з посиленням доставки кисню та поживних речовин до тканин, що сприяє ліквідації гіпоксії, у тому числі, що виникає на тлі надмірних фізичних навантажень.

Використання інвазивної або неінвазивної карбокситерапії в спортивній медицині сприяє відновленню організму після спортивних навантажень, усуваючи вплив факторів, що обмежують працездатність спортсменів, а також ліквідує негативні стани, пов'язані з фізичним перенавантаженням, не створюючи штучні переваги спортсмена порівняно з іншими атлетами. До того ж карбокситерапія є простою та безпечною процедурою. Усе це обґрунтовує доцільність використання карбокситерапії в спортивній медицині як безпечної та ефективною альтернативи допінгу.

Ключові слова: карбокситерапія, спорт, спортивна медицина, допінг, альтернатива

В. В. Цивунин, С. М. Дроговоз, С. Ю. Штрыголь, А. Л. Штробля
Безопасная и эффективная альтернатива допинга: использование карбокситерапии в спорте

Спортивные достижения невозможны без значительных физических нагрузок во время тренировок и соревнований, что выдвигает организму человека чрезвычайно высокие требования. Последние создают постоянную необходимость поиска и внедрения средств для повышения и

восстановления физической работоспособности, предупреждения перегрузки спортсмена. Большинство атлетов с этой целью прибегает к употреблению запрещенных фармакологических средств или применению методов – допингов. Однако применение допингов не только подвергает опасности здоровье спортсменов, но и противоречит духу спорта. В противовес запрещенным веществам и методам существуют недопинговые средства, применение которых у спортсменов не лимитировано.

Безопасной и эффективной, а главное – не запрещенной альтернативой существующим допингам является применение углекислого газа – карбокситерапия. CO_2 является естественным стимулятором дыхания, в качестве биохимического пейсмекера участвует во многих метаболических и рефлекторных процессах системной саморегуляции во всех системах организма (дыхательной, нервной, сердечно-сосудистой, выделительной, кроветворной, иммунной, гуморальной и т. д.) и играет важную роль в поддержании гомеостаза. Механизм карбокситерапии состоит во включении основных процессов адаптации гомеостаза, то есть, способствует переходу организма на более выгодные пути оптимизации обмена веществ. Избыток CO_2 (гиперкапния) приводит к расширению сосудов с усилением доставки кислорода и питательных веществ к тканям, способствует ликвидации гипоксии, в том числе возникающей на фоне чрезмерных физических нагрузок.

Использование инвазивной или неинвазивной карбокситерапии в спортивной медицине способствует восстановлению организма после спортивных нагрузок, устраняя влияние факторов, ограничивающих работоспособность спортсменов, а также ликвидирует негативные состояния, связанные с физическим перенапряжением, не создавая искусственного преимущества спортсмена по сравнению с другими атлетами. К тому же карбокситерапия является простой и безопасной процедурой. Все это обосновывает целесообразность использования карбокситерапии в спортивной медицине как безопасной и эффективной альтернативы допинга.

Ключевые слова: карбокситерапия, спорт, спортивная медицина, допинг, альтернатива

V. V. Tsyvunin, S. M. Drogovoz, S. Yu. Shtrygol', A. L. Shtroblia

A safe and effective alternative to doping: the use of carboxytherapy in sport

Sports achievements are impossible without significant physical exertion during training and competitions, putting forward extremely high demands on the human body. These reasons create a constant need to search for and introduce means to improve and restore physical efficiency, prevent overloading of the athlete. For this purpose, most athletes resort to the use of prohibited pharmacological agents or the use of methods – dopings. However, the use of doping not only jeopardizes the health of athletes, but also contradicts the spirit of the sport. In contrast to prohibited substances and methods, there are non-doping means, the use of which in athletes is not limited.

Safe and effective, and most importantly – not a prohibited alternative to existing dopings is the use of carbon dioxide – carboxytherapy. CO_2 is a natural stimulator of breath, as a biochemical pacemaker it participates in many metabolic and reflex processes of systemic self-regulation in all body systems (respiratory, nervous, cardiovascular, excretory, hematopoietic, immune, humoral, etc.) and plays an important role in homeostasis maintenance. The mechanism of carboxytherapy is to include the main processes of adaptation of homeostasis, that is, it facilitates the transition of the organism to more beneficial ways of optimizing metabolism. Excess CO_2 (hypercapnia) leads to the vasodilation with increased delivery of oxygen and nutrients to tissues, contributes to the elimination of hypoxia, including those that occur against the background of excessive physical exertion.

The use of invasive or non-invasive carboxytherapy in sports medicine helps to restore the body after sports loads, eliminating the influence of factors limiting the efficiency of athletes, and eliminates the negative conditions associated with physical overstrain without creating an artificial advantage of the athlete in comparison with other athletes. In addition, carboxytherapy is a simple and safe procedure. All this justifies the advisability of using carboxytherapy in sports medicine as a safe and effective alternative to doping.

Key words: carboxytherapy, sport, sports medicine, doping, alternative

Надійшла: 3 січня 2018 р.

Контактна особа: Цивунін Вадим Володимирович, кандидат фармацевтичних наук, асистент, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 23 12. Електронна пошта: tsyvunin-vad@ukr.net

Є. В. Бондарєв, С. Ю. Штриголь, Т. В. Горбач

Вміст інтерлейкінів IL-1 β та IL-10 у крові за гострої холодової травми в щурів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Харківський національний медичний університет

Ключові слова: холодова травма, фринопротекторна дія, глюкозаміну гідрохлорид, інтерлейкіни (IL-1 β та IL-10)

Холодові травми (ХТ) належать до актуальних проблем сьогодення та виникають за дії на організм низьких температур [1, 2]. Так, за статистикою Управління з екстреної медичної допомоги та медицини катастроф МОЗ України в січні 2017 року до медичних закладів звернулися 869 осіб з переохолодженням і відмороженням, за офіційними даними 40 осіб померло [3].

ХТ може піддаватися як організм в цілому, так і різні його частини. Найчастіше спостерігається відмороження кінцівок, носа, вух і щік. Головними причинами розвитку відмороження є вплив низької температури довкілля, підвищена вологість повітря, судинна патологія кінцівок, серцево-судинні захворювання, перевтома, виснаження організму, алкогольне сп'яніння та інші [4, 5].

Дія холоду призводить до порушень з боку імунної системи: порушується фагоцитарна активність лейкоцитів, підвищується кількість деяких видів імунoglobulinів, знижується вміст Т- і В-лімфоцитів, змінюється рівень білків гострої фази запалення тощо [6, 7]. Важливою патогенетичною ланкою цих змін є цитокини [8, 9]. Провідне місце серед прозапальних інтерлейкінів посідає інтерлейкін-1 (IL-1), який є одним з найважливіших ендогенних регуляторів різноманітних захисних реакцій організму – специфічних (імунологічних) і неспецифічних (запалення та стрес). Привертає також увагу інтерлейкін-10 (IL-10), який має протизапальні властивості.

Збереження життя та здоров'я, оптимізація функціонального стану та працездатності людини в умовах холодово-

го впливу довкілля є одним з важливих завдань сучасної медицини. Підвищення холодової резистентності є одним з найменш вивчених напрямів фармакології, проблема ефективної терапії ХТ дотепер не вирішена, тому постійно проводиться пошук нових схем лікування та препаратів з фринопротекторними властивостями.

Сьогодні як фринопротектори найчастіше застосовують актопротектори, нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), які впливають на основні ланки патогенезу ХТ [10]. На жаль, сучасні фринопротектори не завжди є досить ефективними та мають серйозні побічні ефекти. До того самого арсенал фринопротекторів на ринку України обмежений.

У наших попередніх дослідженнях доведено, що глюкозаміну гідрохлорид (Г г/х) за гострої ХТ чинить виразну захисну дію: зменшує гіпотермію, покращує виживаність тварин, рухову та фізичну активність, нормалізує реологічні властивості крові, перевершуючи ацетилсаліцилову кислоту (АСК) – відомий фринопротектор [11–13].

Усі ці переваги обґрунтовують доцільність поглибленого вивчення препаратів глюкозаміну як потенційних засобів лікування ХТ. Зокрема, залишається невідомим їхній вплив на стан цитокинів за гострої ХТ.

Мета дослідження – вивчення впливу препаратів глюкозаміну та АСК на вміст інтерлейкінів прозапальної та протизапальної дії (IL-1 β та IL-10) у крові щурів після гострого загального охолодження (ГЗО).

Матеріали та методи. Дослідження виконано в осінній період на 30 білих щурах самицях масою 210–250 г. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію за вільного доступу

до води, постійної вологості та температурного режиму +22–23 °С. Протокол дослідження узгоджується з біоетичними нормами та відповідає «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» (Україна, 2001), а також не суперечить положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) [14].

Досліджувані препарати – 0,9 % розчин NaCl (контроль), «Глюкозамін-С БХФЗ» (Україна), субстанцію Г г/х (Sigma-Aldrich, Німеччина) та розчинні таблетки АСК («Bayer», Німеччина) – вводили у вигляді водного розчину внутрішньошлунково (в/ш) у профілактичному режимі за 30 хв до ХТ [11]. Тварин розділили на 5 груп: 1 група – інтактний контроль (ІК) (n = 6), щурам вводили розчин NaCl (1 мл/100 г); 2 група – контрольна патологія (ХТ), тваринам вводили розчин NaCl (1 мл / 100 г) (n = 6); 3 група – АСК (25 мг/ кг) + ХТ (n = 6); 4 група – «Глюкозамін-С БХФЗ» у дозі 82,5 мг/кг (ця доза еквівалентна 50 мг/кг Г г/х) + ХТ (n = 6); 5 група – Г г/х (50 мг/кг) + ХТ (n = 6). Дози Г г/х 50 мг/кг та АСК 25 мг/кг є умовно ефективними за ХТ [12]. Для введення щурам «Глюкозаміну-С БХФЗ» розчиняли вміст капсули у воді.

Для моделювання гострої ХТ щурів вміщували до прозорих пластикових кліток без обмеження доступу до повітря та розташовували в морозильній камері «Nord Inter-300» (-18 °С) на 2 год [11].

Як інтегральний показник стану тварин після гострої ХТ використовували ректальну температуру, яку вимірювали через 30 хв після холодового пливу цифровим термометром WSD-10. Вплив препаратів на вміст ІЛ-1β та ІЛ-10 у сироватці крові визначали у той самий термін, що й температуру тіла. Інтерлейкіни вимірювали імуноферментним методом за допомогою наборів «Вектор-Бест, Росія» (А-8774 та А-8766).

Для статистичної обробки використовували критерій Стюдента в разі нормального розподілу, за його відсутності – непараметричний критерій W Уайта. Проводили кореляційний аналіз

зв'язку окремих показників за Спирменом. Відмінності вважали статистично значущими за $p < 0,05$ [15]. Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакета статистичних програм «Statistica, V. 6,0».

Результати та їх обговорення. Через 30 хв після закінчення холодового впливу виявлено виразну гіпотермію, що свідчить про тяжкість стану тварин. У всіх експериментальних групах спостерігали вірогідне ($p < 0,05$) зниження ректальної температури порівняно з групою ІК. У групі контрольної патології вона знижувалася в середньому на 4,2 °С, у групі АСК – на 4,4 °С, «Глюкозаміну-С БХФЗ» – на 3,5 °С та Г г/х – на 3,2 °С (рисунок).

Під впливом «Глюкозаміну-С БХФЗ» та Г г/х спостерігали вірогідно вищі показники ректальної температури порівняно з такими в контрольній патології та на тлі АСК. Найкращий ефект нормалізації ректальної температури спостерігали за дії Г г/х, цей показник був вірогідно вищим ($p < 0,05$) порівняно з таким у групах контрольної патології, АСК та «Глюкозаміну-С БХФЗ».

Наступним етапом дослідження було вивчення впливу препаратів глюкозаміну та АСК на вміст інтерлейкінів ІЛ-1β та ІЛ-10 у сироватці крові після ГЗО (таблиця).

За визначення інтерлейкіну ІЛ-1β спостерігали вірогідне підвищення його вмісту в тварин груп контрольної патології, АСК та «Глюкозаміну-С БХФЗ» відносно показника інтактного контролю. Це може свідчити про розвиток запальної реакції після пошкоджувальної дії холоду.

Під впливом АСК, «Глюкозаміну-С БХФЗ» та Г г/х спостерігали вірогідне зниження рівня ІЛ-1β відносно контрольної патології. Визначено, що під впливом Г г/х рівень інтерлейкіну ІЛ-1β був вірогідно найнижчим стосовно всіх досліджуваних груп та максимально наближався до рівня інтактного контролю. Це свідчить про виразні протизапальні властивості досліджуваних препаратів, особливо Г г/х.

У групі контрольної патології виявлено вірогідне зниження вмісту інтерлейкіну

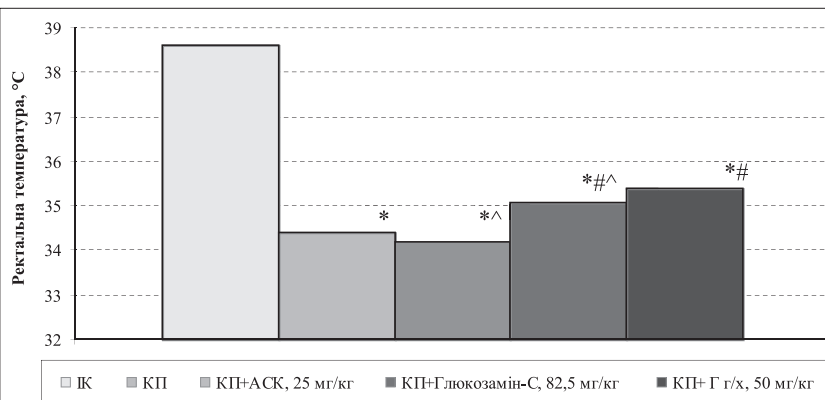


Рисунок. Показники ректальної температури в щурів через 30 хв після гострої холодової травми

Примітка. *Вірогідно щодо інтактного контролю, $p < 0,05$; #вірогідно щодо групи ХТ, $p < 0,05$; ^вірогідно щодо Г $\gamma/х$, $p < 0,05$.

IL-10 порівняно з групою інтактного контролю. Під впливом АСК, «Глюкозаміну-С БХФЗ» та Г $\gamma/х$ спостерігали вірогідне підвищення рівня IL-10 щодо інтактного контролю та групи контрольної патології. Найвищий вміст інтерлейкіну IL-10 виявлено в групі Г $\gamma/х$, який вірогідно перевищував відповідні показники груп інтактного контролю, контрольної патології, АСК та «Глюкозаміну-С БХФЗ».

Кореляційний аналіз виявив зв'язок між вмістом IL-1 β та IL-10. Так, у групі інтактного контролю має місце від'ємний зв'язок середньої сили між IL-1 β та IL-10 ($\rho = -0,319$).

За умов ГЗО характер кореляційного зв'язку змінюється. У групі ХТ з'являється сильний прямий зв'язок між вмістом IL-1 β та IL-10 ($\rho = 0,886$, $p < 0,05$).

У групі АСК виявлено відновлення зв'язку між інтерлейкінами IL-1 β та IL-10: кореляційний зв'язок стає від'ємним середньої сили ($\rho = -0,371$). Це може свідчити про компенсаторне підвищення вмісту IL-10 за посиленої продукції прозапального цитокіну IL-1 β .

Під дією «Глюкозаміну-С БХФЗ» зв'язок між вмістом інтерлейкіну IL-1 β та IL-10 стає від'ємним середньої сили ($\rho = -0,257$), у той час як під впливом Г $\gamma/х$ кореляційний зв'язок між інтерлейкінами IL-1 β та IL-10 є прямим середньої сили ($\rho = 0,543$). Це може свідчити про збереження компенсаторної реакції на вплив холоду. Зростання утворення протизапального цитокіну IL-10 у відповідь на холодове пошкодження тканин, вочевидь, пов'язано зі зниженням рівня IL-1 β .

Таблиця

Показники вмісту інтерлейкінів IL-1 β та IL-10 після гострої холодової травми в щурів

Група	n	Цитокіни, пг/мл	
		IL-1 β	IL-10
Інтактний контроль (ІК)	6	39,94 $\pm$ 0,35	11,21 $\pm$ 0,18
Контрольна патологія (холодова травма, ХТ)	6	131,57 $\pm$ 0,73*	8,38 $\pm$ 0,27*
Холодова травма + ацетилсаліцилова кислота, 25 мг/кг	6	86,63 $\pm$ 0,41*#^	23,81 $\pm$ 0,37*#^
Холодова травма + «Глюкозаміну-С БХФЗ», 82,5 мг/кг	6	93,80 $\pm$ 0,76*#^	19,77 $\pm$ 0,75*#^
Холодова травма + глюкозаміну гідрохлорид, 50 мг/кг	6	36,60 $\pm$ 0,26*#	33,14 $\pm$ 0,60*#

Примітка. *Вірогідно щодо інтактного контролю, $p < 0,05$; #вірогідно щодо групи ХТ, $p < 0,05$; ^вірогідно щодо Г $\gamma/х$, $p < 0,05$.

З даних літератури відомо, що за ХТ вміст інтерлейкіну ІЛ-1 β підвищується більше ніж у 3–8 разів після відморожень [16], та виявлено підвищення інтерлейкіну ІЛ-10 [17]. Ці зміни свідчать про компенсаторну реакцію організму на тлі ХТ з розвитком запальної реакції.

Обидва препарати глюкозаміну, на відміну від АСК, сприяють підвищенню ректальної температури після гострої ХТ. Дослідженням вмісту інтерлейкінів ІЛ-1 β та ІЛ-10 виявлено виразну протизапальну дію препаратів глюкозаміну та АСК. Ця дія полягає в зменшенні вмісту ІЛ-1 β та збільшенні вмісту ІЛ-10. Найефективнішим є Г г/х.

Висновки

1. Гостра ХТ у щурів призводить до статистично значущого зниження ректальної температури, вірогідного підвищення вмісту інтерлейкіну ІЛ-1 β та зниження рівня інтерлейкіну ІЛ-10 у крові, що свідчить про розвиток запального процесу.
2. Доведено, що за умов ГЗО АСК, «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо Г г/х мають виразні протизапальні властивості, про що свідчить вірогідне зниження інтерлейкіну ІЛ-1 β та підвищення вмісту протизапального ІЛ-10 порівняно з групою контрольної патології.

1. Дмитриев А. Холодовые и тепловые травмы / А. Дмитриев // Гражданская защита. – 2012. – № 3. – С. 56–58.
2. Олійник Г. А. Патолофізіологія холодового шоку / Г. А. Олійник // Медицина неотложных состояний. – 2013. – № 8 (55). Интернет-издание «Новости медицины и фармации».
3. Холодная смерть: Минздрав привел страшную статистику смертности от переохлаждения среди граждан Украины [Електронний ресурс] // mk.mk.ua. – 2017. – Режим доступу: <https://www.mk.mk.ua/rubric/social/2017/01/12/35368/>.
4. Патогенетическая общность осложнений при термической травме / К. Г. Шаповалов, В. А. Сизоненко, В. В. Ковалев, Е. Н. Романова // Межобластная научно-практическая конференция травматологов и ортопедов Дальнего Востока, Восточной Сибири, Якутии. – Благовещенск, 2005. – С. 169–171.
5. Олійник Г. А. Клініко-лабораторна та морфофункціональна характеристика холодової хвороби : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : спец. 14.01.03. «Хірургія» / Г. А. Олійник ; Харківська медична академія післядипломної освіти. – Харків, 2011. – 36 с.
6. Герасимов А. А. Состояние системы резистентности организма у здоровых людей и у больных с холодовой травмой в условиях Забайкалья: автореф. дисс. на соискание науч. степени канд. мед. наук / А. А. Герасимов; ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия». – Чита, 1996. – 22 с.
7. Гольдерова А. С. Особенности иммуногематологического статуса больных с отморожениями в республике Саха (Якутия): автореф. дисс. на соискание науч. степени канд. мед. наук / А. С. Гольдерова; ГОУ ВПО «Якутский государственный университет имени М. К. Аммосова». – Якутск, 2006. – 20 с.
8. Витковский Ю. А. Роль цитокинов в регуляции системы гемостаза: автореф. дисс. на соискание науч. степени докт. мед. наук / Ю. А. Витковский; ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия». – Чита, 1997. – 40 с.
9. Кузник Б. И. Иммунный ответ и система гемостаза / Б. И. Кузник, Ю. А. Витковский // Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза. – Барнаул, 2000. – С. 119–127.
10. Голохваст К. С. Некоторые аспекты механизма влияния низких температур на человека и животных (литературный обзор) / К. С. Голохваст, В. В. Чайка // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 486–489.
11. Патент 52370, Україна, А61К 31/726, А61Р 43/00 (2009). Застосування глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, О. Ф. Пімінов, Н. А. Домар. – Заявлено 19.02.2010; Опубл. 25.08.2010. – Бюл. № 16.
12. Бондарев Е. В. Антигипотермические и антиоксидантные свойства глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой холодовой травмы / Е. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь // Вестник фармации. Белоруссия. – 2016. – № 3 (73). – С. 92–97.
13. Бондарев Е. В. Состояние свертывающей системы крови под действием препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты в условиях локальной холодовой травмы / Е. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь // Республиканский научный журнал «Vestnik». Казахстан. – 2017. – № 2 (79). – С. 30–36.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [под ред. Р.У. Хабриева]. – Москва : Медицина, 2005. – С. 832.
15. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва : Ремедиум. – 2000. – С. 349–354.

16. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме / К. Г. Шаповалов, Е. А. Томина, М. И. Михайличенко [и др.] // Медицинская иммунология. – 2008. – Т. 10. – С. 89–92.
17. Коннов В. А. Содержание медиаторов иммунного ответа в плазме больных с местной холодовой травмой при исходной недостаточности питания / В. А. Коннов, К. Г. Шаповалов // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2014. – Т. 11, № 5. – С. 34–38.

Є. В. Бондарєв, С. Ю. Штриголь, Т. В. Горбач

Вміст інтерлейкінів IL-1 β та IL-10 у крові за гострої холодової травми в щурів

Холодові травми (ХТ) належать до актуальних проблем сьогодення та виникають за дії на організм низьких температур.

Мета дослідження – вивчення впливу препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти (АСК) на вміст інтерлейкінів прозапальної та протизапальної дії (IL-1 β та IL-10) у крові щурів після гострого загального охолодження.

Гостра ХТ у щурів призводить до статистично значущого зниження ректальної температури, вірогідного підвищення вмісту IL-1 β та зниження рівня інтерлейкіну IL-10, що свідчить про розвиток запального процесу. Доведено, що за умов гострого загального охолодження АСК, «Глюкозамін-С БХФЗ» та глюкозаміну гідрохлорид (Г г/х) мають виразні протизапальні властивості, про що свідчить вірогідне зниження інтерлейкіну IL-1 β та підвищення вмісту протизапального IL-10 порівняно з групою контрольної патології. Під впливом Г г/х показник IL-1 β був вірогідно нижчим за такий на тлі АСК та «Глюкозаміну-С БХФЗ» та наближався до рівня інтактного контролю.

Ключові слова: холодова травма, фригопротекторна дія, глюкозаміну гідрохлорид, інтерлейкіни (IL-1 β та IL-10)

Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь, Т. В. Горбач

Содержание интерлейкинов IL-1 β и IL-10 в крови при острой холодовой травме у крыс

Холодовые травмы (ХТ) относят к актуальным проблемам и возникают они при действии на организм низких температур.

Цель исследования – изучение влияния препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты (АСК) на содержание интерлейкинов провоспалительного и противовоспалительного действия (IL-1 β и IL-10) в крови крыс после острого общего охлаждения.

Острая ХТ у крыс приводит к статистически достоверному снижению ректальной температуры, достоверному повышению содержания IL-1 β и снижению уровня интерлейкинов IL-10, что свидетельствует о развитии воспалительного процесса. Показано, что при остром общем охлаждении АСК, «Глюкозамин-С БХФЗ» и глюкозамина гидрохлорид (Г г/х) проявляют выраженные противовоспалительные свойства, о чем свидетельствует достоверное снижение интерлейкина IL-1 β и повышение содержания противовоспалительного IL-10 по сравнению с группой контрольной патологии. Под влиянием Г г/х показатель IL-1 β был достоверно ниже по сравнению с АСК и «Глюкозамином-С БХФЗ» и приближался к уровню интактного контроля.

Ключевые слова: холодовая травма, фригопротекторное действие, глюкозамина гидрохлорид, интерлейкины (IL-1 β та IL-10)

E. V. Bondarev, S. Yu. Shtrygol', T. V. Gorbach

Content of interleukins of IL-1 β and IL-10 in the blood after acute cold trauma in the rats

Cold trauma (CT) is the actual problem aroused when the low temperatures affect the body. *The aim of the investigation* was to study the effect of glucosamine preparations and acetylsalicylic acid (ASA) on the level of pro-inflammatory and anti-inflammatory interleukins (IL-1 β and IL-10) in rat blood after the acute general cooling.

The acute CT in rats led to decrease in rectal temperature, significant increase IL-1 β level, and reduce the IL-10 interleukins content, which indicates the development of an inflammatory process. It has been shown ASA, «Glucosamine-C BHFZ» and Glucosamine hydrochloride (G g/ch) had marked pro-inflammatory properties on the model of acute general cooling. It has been confirmed by a significant decrease in IL-1 β interleukin and an increase in anti-inflammatory IL-10 in comparison with control pathology group. The IL-1 interleukin level has been significantly lower under the influence of G g/ch in comparison with ASA and «Glucosamine-S BHFZ» and close to the level of intact control.

Key words: cold trauma, frigoprotective action, glucosamine hydrochloride, «Glucosamine-C BHFZ», acetylsalicylic acid, interleukins (IL-1 β and IL-10)

Надійшла: 28 грудня 2017 р.

Контактна особа: Бондарєв Євген Вікторович, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Куликівська, м. Харків, 61003. Електронна пошта: jck.bond@gmail.com

С. А. Демченко, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко

Синтез і протівірусна активність похідних 1-(2,3-дигідробензо [1,4]діоксан-6-їл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-3*H*-імідазо[1,2-*a*]азепінію та субстанції Амізону

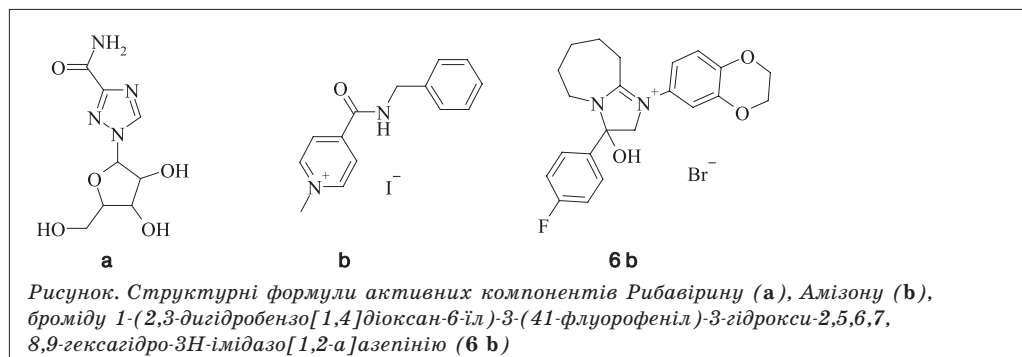
Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

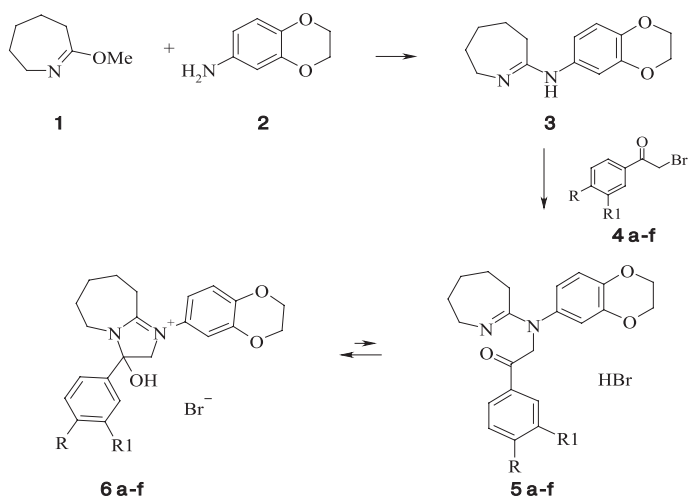
Ключові слова: протівірусна активність, вірус Flu A H1N1 California/07/2009, Амізон, похідні 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-їл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3*H*-імідазо[1,2-*a*]азепінію

Сьогодні проблема гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ) і грипу з огляду на поширеність захворювань і тяжкість ускладнень є однією з актуальних у світі. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) на грип і ГРВІ щороку хворіє майже третина населення Землі, в Україні це 10–14 млн осіб. Віруси грипу належать до РНК-вірусів родини ортоміксовірусів (*Orthomyxoviridae*) та включають три серотипи А, В, С. Серотип А серед трьох серотипів є найвірулентніший і найпатогенніший для людини та може призвести до серйозних ускладнень. H1N1 – підтип вірусу грипу А. Штам цього підтипу вірусу А/Н1N1 уперше був виділений у свиней у 1930 році [1] і віднесений до ендемічного зоонозу [2]. До 2005 року в світі було підтверджено близько 50 випадків зараження вірусом А/Н1N1 осіб [3], які контактували з хворими тваринами [4–6]. У березні-квітні 2009 року в

Мексичці серед населення було зафіксовано спалах свинячого грипу штаму H1N1. У 2009 році в Каліфорнії виділено вірус H1N1 (А/California/04/2009 та А/California/07/2009 (H1N1) [7]. Тільки в 2009 році у світі зафіксовано понад 250 тис. підтверджених випадків зараження людини штамом H1N1, померло понад 2,5 тис. хворих у різних регіонах світу [8]. Захворювання поширюється повітряно-крапельним і контактно-побутовим шляхом. Засоби етіотропної терапії (озельтамівір, занамівір та інші) [9–12] не повністю задовольняють запити клініки, тому актуальним залишається пошук нових ефективних і безпечних протівірусних засобів.

Мета дослідження – синтезувати, вивчити протівірусну активність похідних бромідів 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-їл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3*H*-імідазо[1,2-*a*]азепінію порівняно з відомими протівірусними препаратами Рибавірином й Амізonom на етапі первинного фармакологічного скринінгу (рисунк). Раніше нами було показано [13], що введення атому флуору в бензольне кільце значно підвищує протівірусну дію азотвмістних гетероциклічних сполук.





де 4-6: а) $R=R_1=H$; б) $R=F$, $R_1=H$; в) $R=Cl$, $R_1=H$; г) $R=Br$, $R_1=H$; д) $R=OCH_2CH_3$, $R_1=H$; е) $R=OCH_2CH_3$, $R_1=H$; ф) $RR_1 = -OCH_2CH_2O-$.

Тому з шести синтезованих сполук 6 а-ф, для скринінгу була відібрана саме сполука 6 б.

Матеріали та методи. Досліджувані сполуки – броміди 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-їл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо [1,2-а]азепінію (6) та субстанція препарату «Амізон» були синтезовані у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Досліджувані сполуки (6) синтезовані за схемою, наведеною вище.

2-Метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепін 1 одержано алкілюванням капролактаму диметилсульфатом за методом [14]. α -Бром-4-флуороацетофенон 4 одержано бромованням 4-флуороацетофенону бромом у середовищі оцтової кислоти [15]. Спектри ПМР були зареєстровані на спектрометрі Bruker DAX500, робоча частота 500,13 МГц, внутрішній стандарт ТМС.

Синтез (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-їл)-4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-аміну 3. Суміш 4,53 г (0,03 моль) (2,3-дигідробензо [1,4]діоксан-6-їл)-аміну 2 та 3,94 г (0,031 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну 1 в 30 мл толуолу кип'яють зі зворотним холодильником 3 год. Після охолодження утворений осад відфільтровують, промивають гексаном, сушать. Вихід 4,73 г (64 %). $T_{пл.} = 121-122^\circ C$ (з пропанолу-2). Знайдено, %: $N = 11,6$ $C_{21}H_{20}N_6O_5$.

Вирахувано, %: $N = 11,4$. Спектр ПМР ($DMSO-d_6$, ТМС): 1,46–1,62 (м, 6H, $-CH_2CH_2CH_2-$), 2,36 (м, 2H, CH_2), 3,12 (м, 2H, CH_2), 4,16 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$), 6,14–6,70 (м, 3H, C_6H_3).

Синтез броміду 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-їл)-3-феніл-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію 6 а. До розчину 1,51 г (0,01 моль) (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-їл)-4,5,6, 7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)аміну 3 в 50 мл етилацетату за перемішування додають 1,99 г (0,01 моль) α -бромацетофенону 4 а. Реакційну суміш кип'яють зі зворотним холодильником 1 год. Осад, що утворився, відфільтровують і кристалізують з етанолу. Вихід 3,07 г (69 %). $T_{пл.} = 196-197^\circ C$. Знайдено, %: $N = 6,38$ $C_{22}H_{25}BrN_2O_3$. Вирахувано, %: $N = 6,29$. Спектр ПМР ($DMSO-d_6$, ТМС): 1,61–2,04 (м, 6H, $-CH_2CH_2CH_2-$), 2,78–2,89 (м, 2H, CH_2), 3,36 (м, 2H, CH_2), 4,29 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$), 4,33 та 4,45 (д-д, 2H, 2- CH_2 , $J = 12,4$ Гц), 6,89–7,76 (м, 8H, ароматичні протони), 8,07 (с, 1H, OH).

Бромід 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-їл)-3-(4-флуорофеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію 6 б було одержано аналогічно броміду 6 а із 1,51 г (0,01 моль) аміну 3 та 2,17 г (0,01 моль) α -бром-4-флуороацетофенону 4 б. Вихід 3,43 г (74 %). $T_{пл.} = 264-265^\circ C$. Зна-

йдено, %: $N = 6,19$ $C_{22}H_{24}BrFN_2O_3$. Вирахувано, %: $N = 6,04$. Спектр ПМР (DMSO- d_6 , ТМС): 1,60–1,83 (м, 6H, $-CH_2CH_2CH_2-$), 2,68–2,82 (м, 2H, CH_2), 3,28 (м, 2H, CH_2), 4,30 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$), 4,32 та 4,42 (д-д, 2H, $2-CH_2$, $J = 12,4$ Гц), 6,99–7,80 (м, 7H, ароматичні протони), 8,07 (с, 1H, OH).

Бромід 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-хлорфеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію **6 c** було одержано аналогічно броміду **6 a** з 1,51 г (0,01 моль) аміну **3** та 2,33 г (0,01 моль) α -бром-4-хлорацетофенону **4 c**. Вихід 3,69 г (77 %). $T_{пл.} = 244-246$ °C. Знайдено, %: $N = 5,97$ $C_{22}H_{24}BrClN_2O_3$. Вирахувано, %: $N = 5,84$. Спектр ПМР (DMSO- d_6 , ТМС): 1,62–2,01 (м, 6H, $-CH_2CH_2CH_2-$), 2,73–2,84 (м, 2H, CH_2), 3,35 (м, 2H, CH_2), 4,30 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$), 4,32 та 4,43 (д-д, 2H, $2-CH_2$, $J = 12,4$ Гц), 6,91–7,83 (м, 7H, ароматичні протони), 8,11 (с, 1H, OH).

Бромід 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-бромфеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію **6 d** було одержано аналогічно броміду **6 a** з 1,51 г (0,01 моль) аміну **3** та 2,78 г (0,01 моль) α -бром-4-бром-ацетофенону **4 d**. Вихід 4,19 г (80 %). $T_{пл.} = 266-267$ °C. Знайдено, %: $N = 5,27$ $C_{22}H_{24}Br_2N_2O_3$. Вирахувано, %: $N = 5,34$. Спектр ПМР (DMSO- d_6 , ТМС): 1,62–2,02 (м, 6H, $-CH_2CH_2CH_2-$), 2,76–2,84 (м, 2H, CH_2), 3,34 (м, 2H, CH_2), 4,30 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$), 4,33 та 4,42 (д-д, 2H, $2-CH_2$, $J = 12,4$ Гц), 6,91–7,40 (м, 3H, C_6H_3), 7,57 та 7,74 (д-д, 4H, C_6H_4 , $J = 8,8$ Гц), 8,17 (с, 1H, OH).

Бромід 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-етоксифеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію **6 e** було одержано аналогічно броміду **6 a** з 1,51 г (0,01 моль) аміну **3** та 2,43 г (0,01 моль) α -бром-4-етоксі-ацетофенону **4 e**. Вихід 3,18 г (65 %). $T_{пл.} = 245-246$ °C. Знайдено, %: $N = 5,66$ $C_{24}H_{29}BrN_2O_4$. Вирахувано, %: $N = 5,73$. Спектр ПМР (DMSO- d_6 , ТМС): 1,42 (т, 3H, OCH_2CH_3), 1,58–2,04 (м, 6H, $-CH_2CH_2CH_2-$), 2,75–2,81 (м, 2H, CH_2), 3,29–3,43 (м, 2H, CH_2), 4,06 (кв., 2H, OCH_2CH_3), 4,30 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$),

4,31 та 4,43 (д-д, 2H, $2-CH_2$, $J = 12,4$ Гц), 6,89–7,62 (д-д, 4H, C_6H_4 , $J = 8,8$ Гц), 6,91–7,42 (м, 3H, C_6H_3), 8,00 (с, 1H, OH).

Бромід 1,3-ди-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію **6 f** було одержано аналогічно броміду **6 a** із 1,51 г (0,01 моль) аміну **3** та 2,57 г (0,01 моль) 2-бром-1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-етанону **4 f**. Вихід 3,69 г (77 %). $T_{пл.} = 250-251$ °C. Знайдено, %: $N = 5,71$ $C_{24}H_{27}BrN_2O_5$. Вирахувано, %: $N = 5,57$. Спектр ПМР (DMSO- d_6 , ТМС): 1,62–1,99 (м, 6H, $-CH_2CH_2CH_2-$), 2,75–2,79 (м, 2H, CH_2), 3,32–3,38 (м, 2H, CH_2), 4,28 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$), 4,30 (м, 4H, $-OCH_2CH_2O-$), 4,29 та 4,37 (д-д, 2H, $2-CH_2$, $J = 12,4$ Гц), 6,83–7,36 (м, 6H, ароматичні протони), 7,99 (с, 1H, OH).

Противірусну активність відносно вірусу Flu A H1N1 California/07/ 2009 було проведено в Південному дослідному інституті США (Southern Research Institute – SRI, Birmingham, Alabama) у рамках міжнародної програми з пошуку нових противірусних засобів. Згідно з договором про співпрацю між ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» та Південним дослідним інститутом США, для визначення противірусної активності разом зі сполукою **6 b** було передано діючу речовину препарату Амізон (йодид 4-(N-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридинію) – оригінальної розробки ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» [16], що має анагезуючі, протизапальні, жарознижуючі властивості.

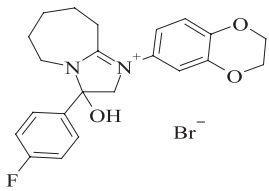
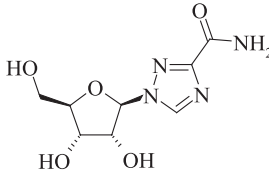
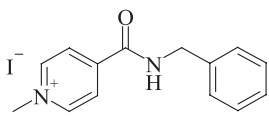
Для оцінювання противірусної активності тестованих сполук і препаратів було проведено тест *in vitro* з використанням культури клітини MDCK. Культуральне середовище вирощували в 96-лунковому мікропланшеті, поки дно кожної лунки не покриється клітинами. Залишкове культуральне середовище повністю видаляли, та кожну лунку двічі промивали фосфатним буфером. У кожну лунку додавали розчин вірусу Flu A H1N1 у диметилсульфоксиді (ДМСО), скоригованого до необхідної концентрації. Потім у кожну

лунку додавали сполуку **6 b**, або Амізон, або Рибавірин (Sigma), розчинені в ДМСО, до кінцевої концентрації від 0,1 до 10 мкг/мл. Після культивування протягом 48 год спостерігали в мікроскопі стан культури клітин MDCK. Потім додавали 100 мкл 70% ацетону та кожну лунку витримували при -20°C протягом 1 год. Після висушування в сушильній шафі додавали 100 мкл 0,4 % (w/v) розчину SRB (сульфородаміну В), розчиненого в 1 % (v/v) оцтової кислоті. Після 30 хв фарбування розчин SRB, що не зв'язався з клітинами, 4 рази промивали 1 % (v/v) оцтовою кислотою. Після висушування в кожну лунку додавали 100 мкл 10 ммоль/л розчину Tris (pH 10,5) для розчинення забарвленої речовини на дні лунки. Для оцінки противірусної активності вимірювали оптичну густину. Клітини, що оброблені тільки ДМСО, та клітини, що оброблені ДМСО та вірусом Flu A H1N1, використовували для контролю.

Результати та їх обговорення. Аналіз результатів (таблиця) противірусної активності щодо вірусу Flu A H1N1 California/07/2009 свідчить, що активність броміду 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-флуорофеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-a]азепінію **6 b** спостерігається за концентрації, меншій у 2,8 разу, ніж для Рибавірину, та в 15,1 разу, ніж для Амізону. У цьому разі ефективність сполуки **6 b** за індексом селективності становить > 32 за $\text{IC}_{50} > 100$ мкг/мл. У той самий час індекс селективності препарату порівняння Рибавірину дещо вищий ($\text{SI} > 37$), але $\text{IC}_{50} > 320$ мкг/мл. Слід зазначити, що якби IC_{50} для цих двох речовин був би однаковим, то SI для сполуки **6 b** був би в 3,0 разу більшим. Щодо субстанції препарату «Амізон», то отримані результати свідчать про наявність противірусної активності щодо вірусу Flu A H1N1 California/07/2009, але її ефективність є нижчою за таку для сполуки **6 b** та Рибавірину.

Таблиця

*Противірусна активність броміду 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-флуорофеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо [1,2-a]азепінію **6 b** щодо вірусу Flu A H1N1 California/07/2009*

Сполука	Структура	Тип вірусу	EC_{50} , мкг/мл	IC_{50} , мкг/мл	SI
6 b		Flu A (H1N1) California/07/2009	3,1	> 100	> 32
Рибавірин		Flu A (H1N1) California/07/2009	8,7	> 320	> 37
Амізон		Flu A (H1N1) California/07/2009	47,0	> 100	$> 2,1$

Примітка. EC_{50} – ефективна концентрація, що визначається з кривої доза/ефект і є концентрацією речовини, за якої ефект спостерігається для 50 % популяції після проходження певного часу дії. Виражається в мкг/мл. IC_{50} – концентрація, за якої інгібування клітин речовиною складає 50 %. Виражається в мкг/мл. SI – індекс селективності, що є показником ефективності препарату та виражається співвідношенням IC_{50} до EC_{50} .

Висновки

1. Бромід 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-флуорофеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію має високу протівірусну активність по відношенню до вірусу Flu A H1N1 California/07/2009 за показниками ефективної концентрації EC₅₀ 3,1 мкг/мл (меншій у 2,8 разу, ніж для Рибавіріну) та індексом селективності, співставимим з таким для Рибавіріну (SI > 32 та > 37 відповідно).

2. Для субстанції препарату «Амізон» визначена протівірусна активність відносно вірусу Flu A H1N1 California/07/2009 на рівні значення ефективної концентрації EC₅₀ 47 мкг/мл та індексу селективності SI > 2,1.

3. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення похідних 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію як потенційних протівірусних засобів.

1. Shope R. E. Swine influenza. III. Filtration experiments and etiology / R. E. Shope // J. Exp Med. – 1931. – V. 54. – P. 373–385.
2. Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infections / C. C. Dacso [et al.] // J. Clin Microbio. – 1984. – V. 20. – P. 833–835.
3. The prevalence of influenza viruses in swine and the antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine / V. S. Hinshaw [et al.] // Virology. – 1978. – V. 84. – P. 51–62.
4. Are swine workers in the United States at increased risk of infection with zoonotic influenza virus? / K. P. Myers [et al.] // Clin Infect Dis. – 2006. – V. 42. – P. 14–20.
5. Swine workers and swine influenza virus infections / G. C. Gray [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2007. – V. 13. – P. 1871–1878.
6. Swine influenza virus infections: transmission from ill pigs to humans at a Wisconsin agricultural fair and subsequent probable person-to-person transmission / D. L. Wells [et al.] // JAMA. – 1991. – V. 265. – P. 478–481.
7. Olsen C. W. The emergence of novel swine influenza viruses in North America / C. W. Olsen // Virus Res. – 2002. – V. 85. – P. 199–210.
8. Bartlett J. G. 2009 H1N1 Influenza — Just the Facts: What's New and What to Expect // Published: 09/25/2009 Available at <http://www.medscape.com/>.
9. Emergence of novel swine – origin influenza A (H1N1) virus in human. Novel swine–origin influenza A (H1N1) virus investigation team // The New England Journal of Medicine. – 2009. – V. 10. – P. 1–10.
10. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Update: drug susceptibility of swine-origin influenza A (H1N1) viruses, April 2009. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). – 2009. – V. 58. – P. 433–435.
11. FDA. Antiviral Drug Advisory Committee. Gaithersburg: Centre for Drug Evaluation and Research. – 2002. – P. 1–266.
12. Hayden F. WHO Guidelines on the Use of Vaccines and Antivirals during Influenza. Annex 5-Considerations for the Use of Antivirals during an Influenza pandemic, Geneva, 2–4 October, 2002.
13. Патент на корисну модель № 108401 Україна, МПК (2016.01) C07D 253/065 (2006.01), C07D 295/00. N-(31-хлор-41-метилфеніл)-N1-(31-фторфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]тріазин-2,4-діамін, що проявляє антивірусну активність щодо вірусу middle east coronavirus (HCOV-EMC) // Демченко А. М., Суховєєв В. В., Бобкова Л. С., Ренькас Ю. В. – № у 2016 01110; Заявл. 09.02.2016; Опубл. 11.07.2016, Бюл. № 13.
14. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом / В. Г. Граник, А. М. Жидкова, Н. С. Курятов [и др.] // ХГС. – 1973. – № 11. – С. 1532–1535.
15. Laufer S. A. Synthesis / Laufer S. A., Hauser D. R. J., Liedtke A. J. – 2008. – № 2. – P. 253–266.
16. Патент на винахід UA 6752. Опубл. 29.12.1994. Бюл. № 8. Трінус Ф. П., Даниленко В. П., Бухтіарова Т. А., Рибалко С. Л., Аркадьєв В. Г., Клебанов Б. М., Максимов Ю. М., Фролов А. Ф., Портнягіна В. О., Кузьменко І. Й., Гюллінг Е. В., Лиманський Ю. П., Овруцький В. М., Губський Ю. І., Чекман І. С., Жила В. А., Тарнавська М. – Л. І. «4-(п-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридиній йодид – знеболюючий засіб з інтерферогенними, протизапальними та жарознижуючими властивостями».

С. А. Демченко, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко

Синтез і протівірусна активність похідних 1-(2,3-дигідробензо-[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію та субстанції Амізону

Проблема гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ) і грипу, особливо грипу, викликаного вірусом H1N1, з огляду на поширеність захворювань, тяжкість перебігу та ускладнень, є однією з актуальних медичних і соціальних проблем сучасності.

Мета дослідження – синтезувати, вивчити протівірусну активність похідних бромідів 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію порівняно з відомими протівірусними препаратами Рибавірином та Амізоном на етапі первинного фармакологічного скринінгу.

Взаємодією (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-4,5,6, 7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)аміну з 4- та 3,4-заміщеним α -бромацетофеноном отримані броміди 1-(2,3-дигідробензо-[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію. Оцінено протівірусну активність броміду 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-флуорофеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію та субстанції препарату «Амізон». Показано, що досліджувані речовини мають протівірусну активність відносно вірусу Flu A H1N1 California/07/2009 у тесті *in vitro* на культурі клітини MDCK. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення похідних 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію як потенційних протівірусних засобів.

Ключові слова: протівірусна активність, вірус Flu A H1N1 California/07/2009, Амізон, похідні 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7, 8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепінію

С. А. Демченко, Т. А. Бухтиарова, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко

Синтез и протівірусная активність производных 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепиния и субстанции Амизона

Проблема острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и гриппа, особенно гриппа, вызванного вирусом H1N1, благодаря распространению заболеваний, тяжести протекания и осложнений, является одной из актуальнейших медицинских и социальных проблем современности.

Цель исследования – синтезировать, изучить протівірусную активність производных бромидов 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепиния в сравнении с известными протівірусными препаратами Рибавирином и Амизоном на этапе первичного фармакологического скрининга.

Взаимодействием (2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-4,5,6, 7-тетрагідро-3H-азепин-2-іл) амина с 4- и 3,4-замещенными α -бромацетофенонами получены бромиды 1-(2,3-дигідробензо-[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепиния. Проанализирована протівірусная активність бромидов 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-(4¹-фторфеніл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепиния и субстанции препарата «Амізон». Показано, что исследованные соединения проявляют протівірусное действие по отношению к вирусу Flu A H1N1 California/07/2009 в тесте *in vitro* на культуре клеток MDCK. Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейшего изучения производных 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепиния в качестве потенциальных протівірусных средств.

Ключевые слова: протівірусная активність, вирус Flu A H1N1 California/07/2009, Амизон, производные 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-а]азепиния

S. A. Demchenko, T. A. Bukhtiarova, L. S. Bobkova, A. M. Demchenko

Synthesis and antiviral activity of 1-(2,3-dihydro-[1,4]dioxin-6-yl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium based compounds and active substance of Amizon

The problem of acute respiratory infections (ARVIs) and flu, especially influenza caused by virus H1N1, due to the prevalence of disease incidence and adverse effects, is one of the urgent medical and social problems.

The purpose of the study is to synthesize and analyze the antiviral activity of 1-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin-6-yl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide based compounds in comparison with known antiviral medicinal products Ribavirin and Amizon at primary pharmacological screening stage.

By the reaction of (2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin-6-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepin-2-yl)amine with 4- and 3,4-substituted α -bromoacetophenones 1-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin-6-yl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromides were obtained. The antiviral activity was determined for 1-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin-6-yl)-3-(4¹-fluorophenyl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide and active substance of Amizon. It is shown that the analyzed substances have antiviral activity in against the virus Flu A H1N1 California/07/2009 in test *in vitro* on cell culture MDCK. The results obtained substantiate the feasibility of further studies of 1-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin-6-yl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium based compounds as potential antiviral medicinal products.

Key words: antiviral activity, Flu A H1N1 California/07/2009 virus, Amizon, 1-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin-6-yl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium based compounds

Надійшла: 3 січня 2018 р.

Контактна особа: Демченко С. А., Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03150. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.

А. М. Єлінська, О. О. Швайковська, В. О. Костенко

Вплив епігалокатехін-3-галату на продукцію активних форм кисню й азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системної запальної відповіді

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: сигнальний шлях Keap1 / Nrf2 / ARE, епігалокатехін-3-галат, системна запальна відповідь, активні форми кисню й азоту, пародонт, слинні залози

Відомо, що до порушень структури та функції пародонта та слинних залоз (СЗ) призводить низка соматичних захворювань (метаболічний синдром, атеросклероз, хронічний пієлонефрит, травматична хвороба тощо), розвиток яких включає системну запальну відповідь (СЗВ) як важливу ланку патогенезу [1, 2]. Значну роль у цьому процесі відіграє окисно-нітрозативний стрес, пов'язаний з тривалою активацією певних редокс-чутливих транскрипційних факторів (NF-κB, AP-1) [3, 4]. Наслідком цього є експресія генів запальних цитокінів, індукцйбельної NO-синтази (NOS), металопротеїназ, молекул клітинної адгезії, циклооксигенази-2 та ін., здатних індукувати продукцію активних форм кисню й азоту [5, 6].

Важливе місце серед редокс-чутливих систем клітини займає сигнальний шлях Keap1 / Nrf2, що активує експресію генів за рахунок взаємодії транскрипційного фактора Nrf2 з цис-регуляторним енхансером, відомим як антиоксидант-респонсивний елемент (ARE). Нещодавно доведено регуляторну дію останнього на механізми запалення, канцерогенезу, фіброзу, а також у захисті від дії стресорів різної природи [7, 8]. Особлива роль ARE визначається тим, що від його активності залежить стан NF-κB- і AP-1-асоційованих сигнальних шляхів [9, 10]. Тому система Keap1 / Nrf2 / ARE може мати

особливе значення в механізмах розвитку запально-дистрофічних захворювань пародонта та СЗ і бути перспективною мішенню в розробці нових фармакологічних засобів.

Нещодавно було показано, що низка фармакологічних ефектів зеленого чаю (антиоксидантних, протиалергічних, антиканцерогенних, антибактеріальних) пов'язана з наявністю в його складі епігалокатехін-3-галату (epigallocatechin-3-gallate – EGCG) [11]. Експериментально доведено, що механізм дії цього поліфенолу реалізується через активацію Nrf2 унаслідок протеолізу інгібіторного білка Keap1 [12, 13]. Цей шлях посилює антиоксидантну активність низки ферментів, зокрема, глутатіон-S-трансферази і НАД(Ф)Н-хінооксидоредуктази, що пригнічують вільнорадикальні процеси й зменшують ознаки запалення.

Проте вплив EGCG на розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта та СЗ залишається нез'ясованим. Розв'язання цього завдання дозволить оцінити роль цього поліфенолу як потенційного засобу патогенетичної терапії запально-дистрофічних захворювань пародонта та СЗ.

Мета дослідження – вивчити вплив індуктора системи Keap1 / Nrf2 / ARE епігалокатехін-3-галату на джерела продукції активних форм кисню й азоту в тканинах пародонта та піднижньощелепних СЗ щурів за умов експериментального СЗВ.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на 30 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г, розподілених на 3 групи: 1 – інтактні тварини, 2 – після відтворення СЗВ, 3 – тваринам внутрішньоочеревино вводили

ли EGCG (виробництво «Sigma-Aldrich, Inc.», США) у дозі 21,1 мг/кг 3 рази на 1 тиждень, починаючи з 30 доби відтворення СЗВ [14].

СЗВ відтворювали шляхом внутрішньоочередового введення ліпополісахариду (ЛПС) *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал», Росія) у дозі, яка сприяла підвищенню температури тіла щурів на 1,5 °С, за схемою (модифіковано за [15]): протягом першого тижня вводили по 4 мінімальні пірогенні дози (МПД), що складає 0,4 мкг на 1 кг маси щура 3 рази на 1 тиждень. Протягом наступних семи тижнів експерименту щурам вводили по 4 МПД /кг маси 1 раз на 1 тиждень.

Дослідження проведено відповідно до принципів біомедичної етики. Тварин декапітували під ефірним наркозом. Об'єктами дослідження були м'які тканини пародонта та тканини піднижньощелепних СЗ.

Утворення супероксидного аніонрадикала (САР) оцінювали в тесті з нітросинім тетразолієм за використанням спектрофотометра Ulab у гомогенаті тканин з індукторами у вигляді НАДН – для оцінки продукції САР мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, НАДФН – ендоплазматичним ретикулумом і NOS, пірогеналу – НАДФН-оксидазою лейкоцитів [16].

Сумарну активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-іонів до та після інкубації гомогенату в середовищі, що містить аргінін (субстрат NOS) та НАДФН [17]. Активність нітратредуктази (НАР), нітритредуктази (НИР) і концентрацію пероксинітрит-іонів у гомогенаті визначали спектрофотометрично [17].

Отримані результати статистично обробляли. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунковий критерій Шапіро-Уїлка. Якщо вони відповідали нормальному розподілу, то для їхнього порівняння використовували критерій t-Стюдента для незалежних вибірок. У разі, коли ряди результатів не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні

розрахунки проводили з використанням програми «StatisticSoft 6.0».

Результати та їх обговорення. Моделювання СЗВ призводило до достовірних змін продукції САР у тканинах пародонта та СЗ (табл. 1). Так, загальний фон генерації САР (нестимульована продукція) підвищувався на 40,8 % ($p < 0,01$) і 37,9 % ($p < 0,01$) відповідно. Вироблення САР НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікосомальним і NO-синтазою) зростало – на 38,3 % ($p < 0,01$) та 41,7 % ($p < 0,01$), а дихальним ланцюгом мітохондрій – на 40,5 % ($p < 0,01$) і 37,6 % ($p < 0,01$). Генерація САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів також підвищувалася на 32,9 % ($p < 0,01$) і 70,8 % ($p < 0,01$) відповідно.

Уведення EGCG зменшувало загальний фон генерації САР у тканинах пародонта і СЗ на 23,7 % ($p < 0,01$) і 23,3 % ($p < 0,02$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Вироблення САР НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами за цих умов знижувалося на 22,9 % ($p < 0,02$) і 24,1 % ($p < 0,02$), а дихальним ланцюгом мітохондрій – на 22,9 % ($p < 0,02$) і 25,8 % ($p < 0,01$) порівняно з відповідними результатами другої групи. Продукція САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів також поступалася на 23,3 % ($p < 0,02$) і 41,2 % ($p < 0,01$) відповідним даним другої групи.

Нещодавно доведена здатність системи Keap1 / Nrf2 / ARE контролювати інші редокс-чутливі елементи, у тому числі чинники NF-κB і AP-1 [9, 10]. Раніше було показано, що активація NF-В збільшує продукцію САР мітохондріями та НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами в тканинах пародонта [18, 19] і СЗ [20]. Ефективними стимуляторами продукції САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів є прозапальні цитокіни, синтез яких залежить від активації NF-κB [6].

За умов СЗВ активність NOS у тканинах пародонта та СЗ (табл. 2) збільшилася – у 2,45 разу ($p < 0,001$) та на 86,5 % ($p < 0,001$) відповідно. Це, вочевидь, пов'язано зі здатністю ЛПС забезпечувати NF-κB-залежну активацію індукбельної NO-синтази [6].

Таблиця 1

Стимульована продукція супероксидного аніон-радикала в тканинах пародонта та піднижньощелепних слинних залоз за умов системної запальної відповіді та впливу EGCG, нмоль/2 • с (M + m, n = 30)

Група дослідів	Пародонт			Слинні залози		
	Загальний фон	Індуктор		Загальний фон	Індуктор	
		НАДФН	НАДН		НАДФН	НАДН
Інтактні тварини	1,20 ± 0,09	12,47 ± 0,87	15,41 ± 1,08	1,40 ± 0,08	14,65 ± 0,72	18,69 ± 1,02
Модель системної запальної відповіді	1,69 ± 0,07*	17,25 ± 0,66*	21,65 ± 1,01*	1,93 ± 0,11*	20,76 ± 1,01*	25,72 ± 1,10*
Модель системної запальної відповіді + EGCG	1,29 ± 0,09*	13,51 ± 0,89**	16,69 ± 1,09**	1,48 ± 0,10	15,75 ± 1,10**	19,08 ± 1,24**

Примітка. Тут і в табл. 2: *r < 0,05 порівняно з результатами інтактної групи, **r < 0,05 порівняно з результатами другої групи.

Таблиця 2

Показники нітрозативного стресу в тканинах пародонта та піднижньощелепних слинних залоз за умов системної запальної відповіді та впливу EGCG (M + m, n = 30)

Група дослідів	Пародонт					Слинні залози			
	NOS, мкмоль NO ₂ ⁻ / г • хв	НАР, мкмоль / хв • г білка	НИР, мкмоль / хв • г білка	Перокси-нітрит, мкмоль/г	NOS, мкмоль NO ₂ ⁻ / г • хв	НАР, мкмоль / хв • г білка	НИР, мкмоль / хв • г білка	Перокси-нітрит, мкмоль/г	
Інтактні тварини	4,20 ± 0,22	11,98 ± 0,88	3,43 ± 0,25	0,83 ± 0,04	7,27 ± 0,52	32,23 ± 2,42	7,20 ± 0,66	0,99 ± 0,07	
Модель системної запальної відповіді	10,3 ± 0,50	16,33 ± 0,74*	4,61 ± 0,39*	1,08 ± 0,05*	13,56 ± 0,86	43,23 ± 3,64*	9,96 ± 0,82*	2,56 ± 0,43	
Модель системної запальної відповіді + EGCG	5,76 ± 0,46*/**	12,96 ± 0,75**	3,71 ± 0,25	0,85 ± 0,06**	8,37 ± 0,54**	34,86 ± 2,35	7,80 ± 0,66	1,06 ± 0,07**	

У той самий час у тканинах пародонта та СЗ збільшувалася активність НАР – на 36,3 % ($p < 0,01$) і 34,1 % ($p < 0,05$), а також НИР – на 34,4 % ($p < 0,05$) і 38,3 % ($p < 0,05$) відповідно. Ці ферментативні системи утворення нітрит-іонів і NO активуються в тканинах, головним чином, за умов гіпоксії. Активація цих ферментів на тлі збільшення утворення NO NOS свідчить про порушення механізму авторегуляції фізіологічної концентрації NO у тканинах [21]. Закономірним наслідком цього було виявлене збільшення утворення активних форм азоту: уміст пероксинітриту підвищувався в тканинах пародонта та СЗ – на 30,1 % ($p < 0,01$) і в 2,6 разу ($p < 0,01$) відповідно.

Пероксинітрит здатний, у свою чергу, підвищувати продукцію САР у тканинах пародонта та СЗ [22], що пов'язують з його здатністю інактивувати НАДН- та НАДФН-залежні оксидоредуктази, порушувати мітохондріальні ферментні комплекси [23].

Уведення EGCG зменшувало активність NOS у тканинах пародонта і СЗ (табл. 2) – на 44,2 % ($p < 0,001$) і на 38,3 % ($p < 0,001$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Показники стану нітрат- / нітритредуктазної ланки циклу NO, що є резервним механізмом утворення останнього за умов гіпоксії, змінювалися в меншій мірі. Так, активність НАР у тканинах пародонта поступалася даним другої групи – на 20,6 % ($p < 0,02$), але в тканинах СЗ суттєво не змінювалася. Активність НИР у тканинах пародонта та СЗ вірогідно не відрізнялася від результатів інших груп.

У той самий час уміст пероксинітриту зменшувався в тканинах пародонта та СЗ – на 21,3 % ($p < 0,02$) і на 58,6 % ($p < 0,01$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Це, вочевидь, було наслідком зменшення генерації САР і NO, необхідних для утворення пероксинітриту.

Отримані результати вказують, що застосування EGCG знижує генерацію САР електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій, ендоплазматичного ретикулума (мікросом) та NOS,

НАДФН-оксидазою лейкоцитів, що вказує на обмеження в тканинах пародонта та СЗ за відтворення СЗВ проявів окисного стресу. За цих умов зменшується генерація цитотоксичних концентрацій NO, що забезпечується індукбельною ізоформою NOS. Усе це закономірно позначається на зниженні в тканинах пародонта та СЗ концентрації пероксинітриту.

Враховуючи, що всі наведені вище показники окисно-нітрозативного стресу залежать від активації транскрипційного чинника NF- κ B, можливо припустити, що результат позитивного впливу EGCG як індуктора системи Keap1 / Nrf2 / ARE пов'язаний з обмеженням NF- κ B-сигналізації. Раніше було показано, ЛПС-опосередкована активація NF- κ B може зменшуватися в разі введення в організм індукторів Nrf2 (фенетилізотіоціанату, сульфорафану та куркуміну) [9]. Призначення сульфорафану та дибензоїлметану окремо або в комбінації суттєво пригнічує розвиток аденом кишечника в мишей ArcMin разом зі зниженням концентрації простагландину E2, лейкотрієну B4 та активності циклооксигенази-2, синтез яких пов'язаний з NF- κ B-залежним сигнальним шляхом. Окрім того, виявилось, що введення фенетилізотіоціанату та сульфорафану пригнічує фосфорилування на ділянці I κ B-кіназний комплекс (IKK) / інгібіторний білок I κ B з подальшою ядерною транслокацією субодиниці p65, отже порушує NF κ B-залежний сигнальний шлях [24]. Повідомляється також про можливість зменшення активності IKK β [25] та каспаза-опосередкованого протеолізу NF- κ B/p65 [26] у разі застосування EGCG.

Проте останнім часом було повідомлено, що NF- κ B здатний безпосередньо пригнічувати Nrf2-сигналізацію на рівні транскрипції. Він конкурує з Nrf2 на рівні транскрипційного коактиватора CREB-зв'язуючого білка (CBP) [27]. Крім того, NF- κ B може залучати деацетилазу гістонів 3 (HDAC3), що забезпечує гіпоацетилювання з порушенням Nrf2-сигналізації.

Таким чином, здатність EGCG пригнічувати активацію NF- κ B є важливою

особливістю цього поліфенолу, що створює передумови для успішної реалізації цитопротективних властивостей системи Keap1 / Nrf2 / ARE.

Висновок

Таким чином, введення епігалокатехін-3-галату за відтворення системної запальної відповіді є ефективним засобом корекції окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта

та піднижньощелепних слинних залоз щурів: зменшує в них генерацію супероксидного аніон-радикала, зокрема, його продукцію електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму та NOS, НАДФН-оксидазою лейкоцитів, а також знижує сумарну активність NO-синтази та концентрацію пероксинітриду.

1. Состояние слюнных желез у больных с метаболическим синдромом / В. В. Афанасьев, Р. И. Стрюк, С. Э. Арутюнян [и др.] // Росс. стоматол. журн. – 2011. – № 3. – С. 17–19.
2. Host response mechanisms in periodontal diseases / N. Silva, L. Abusleme, D. Bravo [et al.] // J. Appl. Oral. Sci. – 2015. – V. 23, № 3. – P. 329–355.
3. Кайдашев И. П. Роль NF-κB в функционировании отдельных тканей, развитии и синтропии заболеваний основных систем организма / И. П. Кайдашев // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18, № 2. – С. 186–198.
4. Расин М. С. Роль ядерных транскрипционных факторов в синтропии современной внутренней патологии / М. С. Расин, И. П. Кайдашев // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 1. – С. 17–21.
5. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство : [монография] / под ред. О. Г. Хурцилавы, Н. Н. Плужникова, Я. А. Накатиса. – Санкт-Петербург : Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012. – 340 с.
6. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A. K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // Trends Cell. Biol. – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557–566.
7. Vomhof-Dekrey E. E. The Nrf2-antioxidant response element pathway: a target for regulating energy metabolism / E. E. Vomhof-Dekrey, M. J. Sr. Picklo // J. Nutr. Biochem. – 2012. – V. 23, № 10. – P. 1201–1206.
8. Ma Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity / Q. Ma // Annu Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2013. – V. 53. – P. 401–426.
9. Activation of Nrf2-antioxidant signaling attenuates NF-κB-inflammatory response and elicits apoptosis / W. Li, T. O. Khor, C. Xu [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 2008. – V. 76, № 11. – P. 1485–1489.
10. Wardyn J. D. Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF-κB response pathways / J. D. Wardyn, A. H. Ponsford, Ch. M. Sanderson // Biochem. Soc. Trans. – 2015. – V. 43, № 4. – P. 621–626.
11. Kim H. S. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate / H. S. Kim, M. J. Quon, J. A. Kim // Redox Biol. – 2014. – V. 2. – P. 187–195.
12. Protective effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) via Nrf2 pathway against oxalate-induced epithelial mesenchymal transition (EMT) of renal tubular cells / R. Kanlaya, S. Khamchun, C. Kapincharanon [et al.] // Sci Rep. – 2016. – V. 6. – Publ. 30233.
13. Epigallocatechin gallate upregulates NRF2 to prevent diabetic nephropathy via disabling KEAP1 / W. Sun, X. Liu, H. Zhang [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2017. – V. 108. – P. 840–857.
14. Repeated dose studies with pure Epigallocatechin-3-gallate demonstrated dose and route dependent hepatotoxicity with associated dyslipidemia / B. Ramachandran, S. Jayavelu, K. Murhekar, T. Rajkumara // Toxicol. Rep. – 2016. – V. 3. – P. 336–345.
15. Пат. 14222 Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб експериментального моделювання інсулінорезистентності / Третяк І. В., Амброскіна В. В., Крячок Т. А., Талаєва Т. В., Ларіонов О. П.; № у 200509354; заявл. 04.10.2005, опубл. 15.05.2006. Бюл. № 5.
16. Костенко В. О. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання / В. О. Костенко, О. І. Цебржинський // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 5. – С. 56–62.
17. Akimov O. Ye. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride / O. Ye. Akimov, V. O. Kostenko // Ukr. Biochem. J. – 2016. – V. 88, № 6. – P. 70–75.
18. Ляшенко Л. І. NF-κB-опосередкований вплив NO-синтаз на вільнорадикальні процеси у тканинах пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому / Л. І. Ляшенко, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, № 2. – С. 140–143.
19. Богданов О. В. Вплив інгібітора ядерної транслокації транскрипційного фактора κB на окисний метаболізм у тканинах пародонта щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію / О. В. Богданов, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2017. – Т. 17, № 1. – С. 217–219.

20. Нагорняк І. В. Ефективність поєднаного застосування L-аргініну та інгібітора ядерного фактора κВ для корекції вільнорадикальних процесів і функцій слинних залоз щурів за умов дії метилового ефіру метакрилової кислоти / І. В. Нагорняк, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2015. – Т. 15, № 3, Ч. 1. – С. 221–225.
21. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів / В. О. Костенко, Н. В. Соловйова, О. В. Коваленко [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 150–154.
22. NO- и пероксинитрит-зависимые изменения продукции супероксидного анион-радикала в органах крыс при экспериментальном метаболическом синдроме / В. А. Костенко А. Н. Елинская, Л. И. Ляшенко [и др.] // Журн. Гродненского гос. мед. ун-та. – 2014. – № 2. – С. 74–77.
23. Szabó S. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi // Nature Reviews. – 2007. – V. 6. – P. 662–680.
24. Suppression of NF-κappaB and NF-κappaB-regulated gene expression by sulforaphane and PEITC through IκappaBα, IKK pathway in human prostate cancer PC-3 cells / C. Xu, G. Shen, C. Chen [et al.] // Oncogene. – 2005. – V. 24. – P. 4486–4495.
25. The green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate blocks nuclear factor-κappa B activation by inhibiting Iκappa B kinase activity in the intestinal epithelial cell line IEC-6 / F. Yang, H. S. Oz, S. Barve [et al.] // Mol. Pharmacol. – 2001. – V. 60, № 3. – P. 528–533.
26. Gupta S Essential role of caspases in epigallocatechin-3-gallate-mediated inhibition of nuclear factor κappa B and induction of apoptosis / S. Gupta, K. Hastak, F. Afaq [et al.] // Oncogene. – 2004. – V. 23, № 14. – P. 2507–2522.
27. Liu G. H. NF-κappaB/p65 antagonizes Nrf2-ARE pathway by depriving CBP from Nrf2 and facilitating recruitment of HDAC3 to MafK / G. H. Liu, J. Qu, X. Shen // Biochim. Biophys. Acta. – 2008. – V. 1783. – P. 713–727.

А. М. Єлінська, О. О. Швайковська, В. О. Костенко

Вплив епігалокатехін-3-галату на продукцію активних форм кисню й азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системної запальної відповіді

Мета дослідження – вивчити вплив індуктора системи Keap1 / Nrf2 / ARE епігалокатехін-3-галату (EGCG) на джерела продукції активних форм кисню та азоту в тканинах пародонта та піднижньощелепних слинних залоз (СЗ) щурів за умов експериментальної системної запальної відповіді (СЗВ).

Дослідження були проведені на 30 білих щурах лінії Вістар масою 180–220 г, розподілених на 3 групи: 1 – інтактні тварини, 2 – після відтворення СЗВ, 3 – тваринам внутрішньоочередово вводили EGCG (виробництво «Sigma-Aldrich, Inc.», США) у дозі 21,1 мг/кг 3 рази на 1 тиждень, починаючи з 30 доби відтворення СЗВ (шляхом внутрішньоочередового введення препарату ліпополісахариду *Salmonella typhi* – пірогеналу).

Уведення EGCG знижувало нестимульовану генерацію супероксидного аніон-радикала (CAP) у тканинах пародонта та СЗ на 23,7 % ($p < 0,01$) та 23,3 % ($p < 0,02$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Вироблення CAP НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами зменшувалося на 22,9 % ($p < 0,02$) та 24,1 % ($p < 0,02$), а дихальним ланцюгом мітохондрій – на 22,9 % ($p < 0,02$) та 25,8 % ($p < 0,01$). Продукція CAP НАДФН-оксидазою лейкоцитів поступалася на 23,3 % ($p < 0,02$) та 41,2 % ($p < 0,01$) відповідним даним другої групи. Активність NOS у тканинах пародонта і СЗ знижувалася на 44,2 % ($p < 0,001$) та на 38,3 % ($p < 0,001$) відповідно. Уміст пероксинітриту зменшувався в тканинах пародонта і СЗ на 21,3 % ($p < 0,02$) і на 58,6 % ($p < 0,01$).

Зроблено висновок, що введення EGCG за умов відтворення СЗВ є ефективним засобом корекції окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта та піднижньощелепних СЗ щурів: зменшує в них генерацію супероксидного аніон-радикала, зокрема, його продукцію електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму та NOS, НАДФН-оксидазою лейкоцитів, а також знижує сумарну активність NO-синтази та концентрацію пероксинітриту.

Ключові слова: сигнальний шлях Keap1 / Nrf2 / ARE, епігалокатехін-3-галат, системна запальна відповідь, активні форми кисню й азоту, пародонт, слинні залози

А. Н. Елинская, Е. О. Швайковская, В. А. Костенко

Влияние эпигаллокатехин-3-галлата на продукцию активных форм кислорода и азота в тканях пародонта и слюнных желез крыс в условиях системного воспалительного ответа

Цель исследования – изучить влияние индуктора системы Keap1 / Nrf2 / ARE эпигаллокатехин-3-галлата (EGCG) на источники продукции активных форм кислорода и азота в тканях пародонта и поднижнечелюстных слюнных желез (СЖ) крыс в условиях экспериментального системного воспалительного ответа (СВО).

Исследования были проведены на 30 белых крысах линии Вистар массой 180–220 г, разделенных на 3 группы: 1 – интактные животные, 2 – после воспроизведения СВО, 3 – животным внутрибрюшинно вводили EGCG (производство «Sigma-Aldrich, Inc.», США) в дозе 21,1 мг/кг 3 раза в 1 неделю, начиная с 30 суток воспроизведения СВО (путем внутрибрюшинного введения препарата липополисахарида *Salmonella typhi* – пирогенала).

Введение EGCG снижало нестимулированную генерацию супероксидного анион-радикала (CAP) в тканях пародонта и СЖ на 23,7 % ($p < 0,01$) и на 23,3 % ($p < 0,02$) соответственно по сравнению с результатом второй группы. Выработка CAP НАДФН-зависимыми электронно-транспортными цепями уменьшалась на 22,9 % ($p < 0,02$) и на 24,1 % ($p < 0,02$), а дыхательной цепью митохондрий – на 22,9 % ($p < 0,02$) и на 25,8 % ($p < 0,01$). Продукция CAP НАДФН-оксидазой лейкоцитов уступала на 23,3 % ($p < 0,02$) и на 41,2 % ($p < 0,01$) соответствующим данным второй группы. Активность NOS в тканях пародонта и СЖ снижалась на 44,2 % ($p < 0,001$) и на 38,3 % ($p < 0,001$) соответственно. Содержание пероксинитрита уменьшалось в тканях пародонта и СЖ на 21,3 % ($p < 0,02$) и на 58,6 % ($p < 0,01$).

Сделан вывод, что введение EGCG при воспроизведении СВО является эффективным средством коррекции окислительно-нитрозативного стресса в тканях пародонта и поднижнечелюстных СЖ крыс: уменьшает в них генерацию супероксидного анион-радикала, в частности, его продукцию электронно-транспортными цепями митохондрий, эндоплазматического ретикула и NO-синтазы, НАДФН-оксидазой лейкоцитов, а также снижает суммарную активность NO-синтазы и концентрацию пероксинитрита.

Ключевые слова: сигнальный путь Keap1 / Nrf2 / ARE, эпигаллокатехин-3-галлат, системный воспалительный ответ, активные формы кислорода и азота, пародонт, слюнные железы

A. M. Yelins'ka, O. O. Shvaykovs'ka, V. O. Kostenko

Influence of epigallocatechin-3-gallate on production of reactive oxygen and nitrogen species in tissue of peridontium and salivary glands under systemic inflammatory response in rats

The purpose of the study was to investigate the effect of an inducer of the Keap1 / Nrf2 / ARE epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on sources of reactive oxygen and nitrogen species in the tissues of periodontium and submandibular salivary glands (SG) of rats under the modeled systemic inflammatory response (SIR).

The studies were conducted on 30 white rats of the Wistar line weighing 180–220 g, divided into 3 groups: the 1st included intact animals, the 2nd – animals after induced SIR, and the 3rd included animals, which were injected EGCG (production of Sigma-Aldrich, Inc., USA) intraperitoneally in a dose of 21,1 mg / kg 3 times a 1 week, starting on the 30th day of SIR induction by intraperitoneal administration of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide – pyrogenal).

The administration of EGCG reduced unstimulated generation of superoxide anion radicals (SAR) in periodontal and SG tissues by 23,7 % ($p < 0,01$) and 23,3 % ($p < 0,02$) respectively compared with the result in the second group. SAR production by NADPH-dependent electron transport chains decreased by 22,9 % ($p < 0,02$) and 24,1 % ($p < 0,02$), and by the mitochondrial respiratory chain lowered by 22,9 % ($p < 0,02$) and 25,8 % ($p < 0,01$). SAR production by leukocytes NADPH-oxidase yielded by 23,3 % ($p < 0,02$) and 41,2 % ($p < 0,01$) to relevant data of the second group. The activity of NOS in periodontal and SG tissues decreased by 44,2 % ($p < 0,001$) and 38,3 % ($p < 0,001$) respectively. Peroxynitrite content went down in periodontal tissues and SG by 21,3 % ($p < 0,02$) and 58,6 % ($p < 0,01$).

We can conclude that EGCG introduction in the SIR modeling is an effective mean to correct oxidative-nitrosative stress in the tissues of periodontium and submandibular SG in the rats: it reduces the generation of superoxide anion radicals, in particular, its production by mitochondrial electron transport chain, microsomal and NO synthase electron transport chains, leukocyte NADPH-oxidase, as well as reduces the total activity of NO-synthase and peroxynitrite concentration.

Key words: signal pathway Keap1 / Nrf2 / ARE, epigallocatechin-3-gallate, systemic inflammatory response, reactive oxygen and nitrogen species, periodontium, salivary glands

Надійшла: 28 грудня 2017 р.

Контактна особа: Костенко Віталій Олександрович, доктор медичних наук, професор, кафедра патофізіології, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», буд. 23, вул. Шевченка, м. Полтава, 36000. Тел.: + 38 0 532226966.
Електронна пошта: e-mail: patofiziolog@umsa.edu.ua

К. О. Калько¹, О. Я. Міщенко¹, А. Ю. Позднякова¹,
Л. В. Деримедвідь¹, М. Ю. Золотайкіна¹,
Т. М. Гонтова¹, О. В. Почелова²

Скринінгові дослідження жовчогінної активності рідкого екстракту трави пижма звичайного (*Tanacetum vulgare*) за умов субхронічного гепатиту в щурів

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²ТОВ «Валартін Фарма», м. Житомир

Ключові слова: печінка, захворювання
гепатобіліарної системи, жовчогінна дія,
гепатопротектори, трава пижма
звичайного

Незважаючи на активний розвиток науково-технічного прогресу, що дозволяє застосовувати інноваційні підходи до розробки лікарських засобів різноманітного складу, суттєво зріс інтерес саме до препаратів рослинного походження. Так, зокрема, згідно з даними ВООЗ, майже 75 % пацієнтів надають перевагу фітопрепаратам [1–4]. Це зумовлено багатьма факторами, у тому числі багатовекторністю механізму дії засобів рослинного походження та їхньою відносною безпечністю [5]. Разом з тим, враховуючи тенденцію до зростання захворювань гепатобіліарної системи [6–9], раціональне й комплексне використання розповсюджених на території України лікарських рослин, які виявляють виражену жовчогінну дію в комплексі з гепатопротекторною активністю, є важливим завданням сучасної фармації та медицини.

На особливу увагу серед лікарських рослин заслуговує Пижмо звичайне (*Tanacetum vulgare*) – багаторічна трав'яниста рослина родини складноцвітих (Compositae), що поширена майже по всій території України з суттєвими запасами сировини [10–11]. Офіційальною сировиною цієї рослини є квіти пижма звичайного, які використовують як засіб, що покращує діяльність шлунково-кишкового тракту (ШКТ) шляхом посилення секреторної

активності, зокрема жовчовиділення [12].

За даними джерел літератури, траву й листя пижма звичайного використовують у народній медицині аналогічно квіткам. Багато науковців прогнозують можливу наявність жовчогінної та гепатопротекторної активності в траві цієї рослини [13, 14]. Проте попри все вищезазначене фармакологічне дослідження трави пижма звичайного не проводилось, і лікарські засоби на основі цієї лікарської рослинної сировини відсутні. Вищевказане спонукало до проведення досліджень отриманого екстракту з трави пижма звичайного – рідкого екстракту (РЕТПЗ) на предмет гепатопротекторної та жовчогінної активності. У попередніх дослідженнях було встановлено позитивний вплив РЕТПЗ на стан печінки за умов експериментального гепатиту [15].

Мета дослідження – вивчити наявність гепатопротекторних і жовчогінних властивостей РЕТПЗ за умов експериментального субхронічного гепатиту.

Матеріали та методи. РЕТПЗ, отриманий на кафедрі ботаніки НФаУ під керівництвом професора Т. М. Гонтової – це рідка речовина темно-коричневого кольору, з специфічним камфорним запахом. Досліджуваний екстракт отримали методом дрібної мацерації, очищення проводили методом перекристалізації та фільтрації, упарювання проводили під вакуумом до співвідношення 1:1. Фітохімічний склад досліджували методом ВЕРХ і встановили, що РЕТПЗ містить лютеолін, рутин, апігенін, апігенін-7-глікозид,

гіперозид, хлорогенову, кофейну, ферулову, галову кислоти. РЕТПЗ стандартизований авторами-розробниками методом спектрофотометрії за вмістом фенольних сполук, а саме сумою флавоноїдів у перерахунку на лютеолін та сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту.

Вивчення жовчогінної дії РЕТПЗ проводили на моделі субхронічного токсичного ураження печінки тетрахлорметаном (ТХМ) у комбінації з алкоголем, що відтворювали одноразовим підшкірним введенням 50 % олійного розчину ТХМ у дозі 0,4 мл/100 г маси тіла щура з наступним внутрішньошлунковим (в/ш) введенням 40 % спирту етилового в дозі 1,3 мл/100 г. Вищезазначений режим введення токсикантів повторювали протягом 4 днів. Для визначення жовчогінної активності РЕТПЗ в обраних для скринінгу дозах 25, 50, 75, 100 та 150 мг/кг вводили щурам за 7 днів до початку моделювання контрольної патології 1 раз у 1 день (профілактичний режим). Під час відтворення контрольної патології РЕТПЗ вводили в/ш за 1 год до введення токсикантів та через 2 год після (лікувально-профілактичний режим), тобто, загалом в експерименті досліджуваний екстракт вводили в лікувально-профілактичному режимі. Через 72 год після останнього введення токсинів у щурів досліджували жовчоутворювальну та жовчосекреторну функції печінки за оцінкою швидкості секреції жовчі (ШСК) та її кількісних складових: уміст жовчних кислот (ЖК) і холестеролу [16].

Як препарат порівняння було обрано гепатопротектор «Карсил» («Sopharma», Болгарія) (уміст силімарину на одну таблетку – 22,5 мг), який вводили в лікувально-профілактичному режимі в дозі 100 мг/кг в/ш, яка за даними досліджень є ефективною на моделях гепатиту в тварин [17]. Вибір Карсилу як препарату порівняння зумовлений виразною гепатопротекторною активністю та наявністю в нього жовчогінних властивостей [7].

Лабораторних тварин (щури масою 190–230 г) розподілили на групи по вісім щурів у кожній: інтактний конт-

роль (ІК); контрольна патологія (КП); п'ять груп тварин, яким вводили РЕТПЗ у дозах 25, 50, 75, 100 та 150 мг/кг відповідно. Вибір такого діапазону доз досліджуваного екстракту зумовлений необхідністю визначити ефективну дозу РЕТПЗ.

Статистичну обробку отриманих результатів проведено з використанням програми «Statistica 8,0». Використовували непараметричний критерій Манна-Вітні, у разі порівняння статистичних показників був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$ [18].

Тварини перебували у віварії ЦНДЛ НФаУ, що атестована МОЗ України (посвідчення від 8 грудня 2015 р. № 058/15, чинне до 7 грудня 2019 р.). Роботу з тваринами проводили відповідно до вимог GLP, рекомендацій ДЕЦ МОЗ України [16], Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV зі змінами «Про захист тварин від жорсткого поводження» та ухвали першого Національного конгресу з біоетики.

Результати та їх обговорення. Інтосикація ТХМ є класичною моделлю ушкодження клітинних та субклітинних структур гепатоцитів. Токсична дія цього ксенобіотика пов'язана з утворенням у печінці в результаті метаболізму продуктів вільнорадикального окиснення (ВРО), центральне місце в яких відводиться хлорметильному радикалу ($CCl_3\cdot$). Останній взаємодіє з ліпідами мембран клітинних і субклітинних структур, індукуючи реакції перекисного окиснення ліпідів, продукти яких інгібують процеси тканинного дихання мітохондрій. Внаслідок порушень процесів енергоутворення та пошкодження ендоплазматичного ретикулула гепатоцитів зменшується інтенсивність синтезу жовчних кислот, що супроводжується холестазом. Комбіноване введення тетрахлорметану з алкоголем, у результаті метаболізму якого утворюється сильний прооксидант ацетальдегід, характеризується більшою глибиною ураження структур печінки внаслідок синергізму гепатотоксичної дії цих речовин [2, 16, 17].

На тлі агресивної патології, викликаній комплексним введенням тетрахлорметану та алкоголю, спостерігали розви-

ток холестазау, про що свідчило пригнічення процесів синтезу ЖК і холестеролу та їхнього виділення з жовчю. Зокрема, спостерігали достовірне зменшення вмісту ЖК у 1,6 разу, холестеролу – у 1,9 разу та ШСЖ – у 2,0 разу порівняно з показниками тварин інтактного контролю (таблиця) [2, 16].

Введення щурам препарату порівняння Карсилу сприяло достовірному збільшенню в жовчі вмісту ЖК у 1,3 разу й холестеролу в 1,4 разу та ШСЖ у 1,7 разу порівняно з контрольною патологією (таблиця). Це підтверджує загальновідомі властивості силімарину щодо стимулювання синтезу ЖК й електrolітів гепатоцитами (холеретична дія) і зниження тонуусу сфінктерів жовчовивідних шляхів (холекінетична дія) [7]. Отже, в цілому Карсил у дозі 100 мг/кг чинив позитивний вплив на жовчосинтетичні та жовчосекреторні процеси в щурів за умов субхронічного гепатиту.

Застосування РЕТПЗ характеризувалося дозозалежним впливом на жовчоутворювальну та жовчосекреторну

функції печінки. РЕТПЗ у дозі 25 мг/кг достовірно не впливав на ШСЖ, уміст ЖК і холестеролу в жовчі. Уведення РЕТПЗ у вищих дозах 50–150 мг/кг сприяло нормалізації ШСЖ (таблиця). У дозі 75 мг/кг РЕТПЗ найвиразніше нормалізував жовчосекреторну функцію печінки, що підтверджується достовірно вищою ШСЖ у 2,1 разу від такої за умов патології. Слід зазначити, що РЕТПЗ у цій дозі сприяв зростанню ШСЖ, що на 46, 30, 19 % достовірно вище ШСЖ під впливом РЕТПЗ у дозах 25, 50, 150 мг/кг відповідно (таблиця). Що стосується впливу екстракту на жовчоутворювальну функцію печінки, тобто на кількісні характеристики жовчі, то збільшення вмісту ЖК було статистично достовірним у всіх досліджуваних дозах екстракту та характеризувалося виразною тенденцією до підвищення вмісту холестеролу. Застосування РЕТПЗ у дозі 75 мг/кг сприяло зростанню в жовчі вмісту ЖК у 1,3 разу ($p < 0,05$) та холестеролу в 1,6 разу.

Таблиця

Жовчосинтетична та жовчосекреторна функція печінки за умов субхронічного гепатиту та впливу рідкого екстракту трави пижма звичайного (n = 8, M ± SEM)

Дослідна група	Швидкість секреції жовчі, мг/хв/100	Жовчні кислоти, мг %	Холестерол, мг %
Інтактний контроль	4,66 ± 0,25	828,78 ± 76,77	33,08 ± 4,68
Гепатит (КП)	2,35 ± 0,25*	529,80 ± 67,12*	17,60 ± 3,95*
Гепатит + Рідкий екстракт трави пижма звичайного, 25 мг/кг	2,72 ± 0,16\$	589,96 ± 69,08**	16,87 ± 5,13
Гепатит + Рідкий екстракт трави пижма звичайного, 50 мг/кг	3,50 ± 0,13**/\$	682,86 ± 56,96**	29,12 ± 10,46
Гепатит + Рідкий екстракт трави пижма звичайного, 75 мг/кг	5,0 ± 0,16**/#	693,97 ± 65,10**	28,35 ± 12,72
Гепатит + Рідкий екстракт трави пижма звичайного, 100 мг/кг	4,60 ± 0,25**	683,14 ± 59,85**	28,25 ± 8,88
Гепатит + Рідкий екстракт трави пижма звичайного, 150 мг/кг	4,05 ± 0,51**/\$	690,55 ± 46,19**	31,09 ± 7,40
Гепатит + Карсил, 100 мг/кг	4,01 ± 0,14**/\$	707,65 ± 53,44**	25,58 ± 5,37

Примітки. *Відхилення показника достовірно значуще щодо показника тварин ІК ($p < 0,05$), **відхилення показника достовірно значуще щодо показника в тварин з групи КП ($p < 0,05$), #відхилення показника достовірно значуще щодо показника в групі тварин, яким вводили Карсил ($p < 0,05$); \$відхилення показника достовірно значуще щодо показника в групі тварин, яким вводили РЕТПЗ у дозі 75 мг/кг ($p < 0,05$); n – кількість тварин у групі.

Порівняльний аналіз отриманих результатів дозволив встановити, що РЕТПЗ у дозі 75 мг/кг відповідав ефективності класичного гепатопротектора Карсилу, а за здатністю нормалізувати ШСЖ перевищував референс препарат у 1,3 разу ($p < 0,05$) (таблиця). Механізм гепатопротекторної активності Карсилу зумовлений прямою антиоксидантною дією похідних силімарину, які є «пасткою» для вільних радикалів, що утворюються за умов оксидативного стресу, модельованого введенням тетрахлорметану та алкоголю. Інгібування оксидативного стресу сприяє збереженню цілісності печінкових клітин та їхньої функціональної активності. Також встановлено, що силімарин здатний стимулювати синтез ЖК і електролітів гепатоцитами та знижувати тонус сфінктерів жовчовивідних шляхів [7]. Щодо можливих механізмів холеретичної та холекінетичної дії РЕТПЗ ймовірно вони є опосередкованими. Біологічно активні речовини (БАР) досліджуваного екстракту: лютеолін, рутин, хлорогенова, кофейна та ферулова кислоти є потужними антиоксидантами; хлоро-

геновій кислоті притаманна власна гепатопротекторна активність. Пригнічення процесів вільнорадикального окиснення, спричиненого введенням токсикантів, позитивно впливає на печінковий гомеостаз. Відповідно, за умов збереження функціональної активності клітин печінки обмінні, детоксикаційні, синтетичні процеси (у тому числі синтез ЖК та холестеролу) у них проходять на належному рівні. Таким чином, можна стверджувати, що жовчосинтетична та жовчогінна дія РЕТПЗ обумовлена БАР, які входять до його складу.

Висновки

1. Встановлено вірогідний вплив РЕТПЗ на жовчосинтетичну та жовчосекреторну функцію печінки в інтервалі доз від 50 до 150 мг/кг.
2. Найвираженіший вплив на секрецію жовчі та синтез жовчних кислот РЕТПЗ чинив у дозі 75 мг/кг.
3. Обґрунтовано доцільність подальшого вивчення РЕТПЗ з метою розробки лікарського засобу гепатопротекторної та жовчогінної дії.

1. *Tatits A.* Експериментальне вивчення фармакологічних властивостей препарату «Альцинара»: дисс. канд. фармацевт. наук: 14.03.05 / А. Татіс НФаУ. – Харків, 2017. – 210 с.
2. *Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in the United States and the rest of the world / M. Sayiner [et al.] // Clin Liver Dis.* – 2016. – V. 20, № 2. – P. 205–214.
3. *ACG Clinical Guideline: The Diagnosis and Management of Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury / N. P. Chalasani [et al.] // Am J Gastroenterol.* – 2014. – V. 109. – P. 950 – 966. URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24935270 (Date of access: 18.04.2017).
4. *Мехтиев С. Н.* Функциональные билиарные расстройства: критерии диагностики и алгоритм терапевтической тактики / С. Н. Мехтиев // Фармпроект. – № 5. – 2013. – С. 2–11.
5. Фітотерапія: сучасні тенденції до використання в лікарській практиці та перспективи подальшого розвитку (огляд літератури та результати власних досліджень) / Т. П. Гарник [та ін.] // Фітотерапія. Часопис. – 2012. – № 1. – С. 4–11.
6. *Mann D. A.* Epigenetics in Liver Disease / D. A. Mann // *Hepatology.* – 2014. – V. 60, № 4. – P. 1418–1425.
7. *Калько К. О.* Хронофармакологічне дослідження активності гепатопротекторних засобів: дис. канд. фармацевт. наук: 14.03.05 / Калько К. О.; НФаУ. – Харків, 2017. – 195 с.
8. *Современные возможности метаболической терапии в комплексном лечении пациентов с хроническим токсическим гепатитом / Н. В. Харченко [и др.] // Сучасна гастроентерологія.* – 2015. – № 4. – С. 43 – 50.
9. *Мехтиев С. Н.* Принцип выбора гепатопротекторов в практике терапевта / С. Н. Мехтиев, С. В. Оковитый, О. А. Мехтиева // Лечащий врач. – 2016. – № 8. – URL: <http://www.lvrach.ru/2016/08/15436533/> (дата звернення: 15.04.2017).
10. *Якусевич Р. В.* Технологические исследования сырья и экстракта пижмы / Р. В. Якусевич // Научная жизнь. – 2011. – № 5. – С. 39–41.
11. *Яковлева А. И.* Биологически активные вещества пижмы обыкновенной *Tanacetum vulgare L.*, произрастающей в центральной Якутии / А. И. Яковлева, В. В. Семенова // Химия растительного сырья. – 2010. – № 3. – С. 147–152.
12. *Куркина А. В.* Исследование флавоноидного состава цветков пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare L.*) / А. В. Куркина // Химия растительного сырья. – 2011. – Часть II, № 4. – С. 209–212.

13. Куркина А. В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография / А. В. Куркина. – Самара : ООО «Офорт»; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.
14. Куркин В. А. Актуальные аспекты создания импортозамещающих лекарственных растительных препаратов / Куркин В. А., Петухина И. К. // Pharmaceutical sciences. – 2014. – № 11. – С. 366–371.
15. Лікувально-профілактичний засіб з гепатопротекторною та холекінетичною дією з трави пижма звичайного (корисна модель). М. Ю. Золотайкіна, Т. М. Гонтова, К. О. Калько, Л. В. Деримедвідь. заяв. у 2017 07213 від 10.07.2017.
16. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек.; за ред. чл-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
17. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов [и др.]. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
18. Трухачева Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 379 с.

**К. О. Калько, О. Я. Мищенко, А. Ю. Позднякова, Л. В. Деримедвідь,
М. Ю. Золотайкіна, Т. М. Гонтова, О. В. Почелова**

Скринингові дослідження жовчогінної активності рідкого екстракту трави пижма звичайного (*Tanacetum vulgare*) за умов субхронічного гепатиту в щурів

Враховуючи тенденцію до зростання захворювань гепатобіліарної системи, раціональне й комплексне використання розповсюджених на території України лікарських рослин та розроблених на основі їхніх БАВ лікарських засобів, які виявляють виражену жовчогінну дію в комплексі з гепатопротекторною активністю, є актуальним питанням сучасної фармації та медицини.

Мета дослідження – вивчити наявність гепатопротекторних і жовчогінних властивостей рідкого екстракту трави пижма звичайного (*Tanacetum vulgare*) за умов експериментального субхронічного гепатиту. Постановлене завдання вирішується шляхом дослідження жовчогінної дії рідкого екстракту трави пижма звичайного за умов субхронічного ушкодження печінки щурів введенням 50 % олійного розчину тетрахлорметану (підшкірно в дозі 0,4 мл/100 г) і 40 % розчину етанолу (внутрішньошлунково в дозі 1,3 мл/100 г).

Досліджуваний рідкий екстракт трави пижма звичайного вводили в лікувально-профілактичному режимі в дозах 25, 50, 75, 100 та 150 мг/кг. Жовчогінну дію оцінювали за впливом на жовчосинтетичні (уміст жовчних кислот та холестеролу) та жовчосекреторні (швидкість секреції жовчі) процеси.

Встановлено сприятливий вплив рідкого екстракту трави пижма звичайного на перебіг субхронічного токсичного гепатиту в дозі 75 мг/кг, про що свідчить зростання швидкості секреції жовчі (у 2,1 разу) та кількісного складу її компонентів: холестеролу та жовчних кислот відповідно в 1,3 ($p < 0,05$) та 1,6 разу. Жовчосинтетична та жовчогінна дія досліджуваного екстракту зумовлена флавоноїдами (лютеолін, рутин, хлорогенова, кофейна та ферулова кислоти), що входять до його складу.

Рекомендовано подальше вивчення рідкого екстракту трави пижма звичайного в дозі 75 мг/кг з метою розробки лікарського засобу гепатопротекторної та жовчогінної дії.

Ключові слова: печінка, захворювання гепатобіліарної системи, гепатопротектори, трава пижма звичайного

**Е. А. Калько, О. Я. Мищенко, А. Ю. Позднякова, Л. В. Деримедведь,
М. Ю. Золотайкіна, Т. Н. Гонтовая, Е. В. Почелова**

Скрининговые исследования желчегонной активности жидкого экстракта травы пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare*) в условиях субхронического гепатита у крыс

Учитывая тенденцию к увеличению заболеваний гепатобилиарной системы, рациональное и комплексное использование распространенных на территории Украины лекарственных растений и разработка на их основе БАВ лекарственных средств, которые оказывают выраженное желчегонное действие в комплексе с гепатопротекторной активностью, является актуальным вопросом современной фармации и медицины.

Цель исследования – изучить наличие гепатопротекторных и желчегонных свойств жидкого экстракта травы пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare*) в условиях экспериментального субхронического гепатита. Постановленное задание решается путем исследования желчегонного действия жидкого экстракта травы пижмы обыкновенной в условиях субхронического поражения печени крыс введением 50 % масляного раствора тетрахлорметана (подкожно в дозе 0,4 мл/100 г) и 40 % раствора этанола (внутрижелудочно в дозе 1,3 мл/100 г).

Исследуемый жидкий экстракт травы пижмы обыкновенной вводили в лечебно-профилактическом режиме в дозах 25, 50, 75, 100 та 150 мг/кг. Желчегонное действие оценивали по влиянию на желчосинтетические (содержание желчных кислот и холестерола) и желчсекреторные (скорость секреции желчи) процессы.

Установлено положительное влияние жидкого экстракта травы пижмы обыкновенной в дозе 75 мг/кг на течение субхронического токсического гепатита, о чем свидетельствует увеличение скорости секреции желчи (в 2,1 раза) и количественного состава ее компонентов: холестерол и желчные кислоты соответственно в 1,3 ($p < 0,05$) и 1,6 раза. Желчесинтетическое и желчегонное действие исследуемого экстракта обусловлено флавоноидами (лютеолин, рутин, хлорогеновая, кофейная и феруловая кислоты), которые содержатся в его составе.

Рекомендовано дальнейшее изучение жидкого экстракта травы пижмы обыкновенной в дозе 75 мг/кг с целью разработки лекарственного средства гепатопротекторного и желчегонного действия.

Ключевые слова: печень, заболевания гепатобилиарной системы, гепатопротекторы, трава пижмы обыкновенной

K. O. Kalko, O. Ya. Mishchenko, A. Yu. Pozdniakova, L. V. Derymedvid, M. Yu. Zolotaykina, T. M. Gontova, O. V. Pochelova

Screening studies of the common tansy grass (*Tanacetum vulgare*) liquid extract choleric activity under subchronic hepatitis in rats

Taking into account the tendency of the hepatobiliary system diseases increasing, rational and complex use of medicinal plants commonly distributed on the territory of Ukraine and drugs developed on the basis of their BAS, which show pronounced bile duct activity in combination with hepatoprotective effect, are topical issues of modern pharmacy and medicine.

The purpose of the study was to substantiate the presence of hepatoprotective and choleric effects of the common tansy grass (*Tanacetum vulgare*) liquid extract under conditions of experimental sub-chronic hepatitis. The given task is solved by studying the choleric effect of the common tansy grass liquid extract under conditions of subchronic injury of the rats liver by the 50 % tetrachloromethane oil solution administration (subcutaneously in a dose of 0,4 ml per 100 g) and 40 % ethanol solution administration (intragastrically in a dose of 1,3 ml per 100 g).

The investigated common tansy grass liquid extract was administrated in the treatment-prophylactic regimen at doses of 25, 50, 75, 100 and 150 mg per kg. Choleric effect was evaluated by the effect on bile synthetic (bile acids and cholesterol content) and bile secretion (bile secretion rate) processes.

The beneficial effect of the common tansy grass liquid extract on the course of subchronic toxic hepatitis in a dose of 75 mg per kg has been established, which is evidenced by an increase in the rate of bile secretion of (in 2,1 times) and a quantitative composition of its components: cholesterol and bile acids in 1,3 ($p < 0,05$) and in 1,6 times. The bile synthesis and choleric effect of the studied extract is due to flavonoids (luteolin, routine, chlorogenic, caffeic and ferulic acids), which are part of its composition.

The further study of the common tansy grass liquid extract in a dose of 75 mg per kg is recommended for the development of drug with hepatoprotective and choleric effects.

Key words: liver, diseases of the hepatobiliary system, hepatoprotectors, common tansy grass

Надійшла: 21 листопада 2017 р.

Контактна особа: Калько Катерина Олександрівна, асистент, кафедра клінічної фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 17, майдан Захисників України, м. Харків, 61001. Тел.: + 38 0 96 085 02 54. Електронна пошта: ketrin27kalko@gmail.com

О. В. Товчига, С. Ю. Штриголь, Ю. Б. Лар'яновська

Вплив настойки яглиці звичайної (*Aegorodium podagraria* L.) та метформіну на гістоструктуру та функцію нирок щурів з алоксановим діабетом

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: яглиця звичайна
(*Aegorodium podagraria* L.), алоксан,
метаболізм глюкози, антигіперглікемічні
засоби, метформін

Зростає увага до субстанцій рослинного походження як потенційних протидіабетичних препаратів із полімодальною дією. Комплаєнтність та інтерес пацієнтів до рослинних засобів також є значними. Ці засоби часто вживають як додаткові на тлі традиційної терапії та без консультацій з лікарем. Така ситуація є підґрунтям розвитку фармакокінетичних та фармакодинамічних взаємодій [1], з чого постає необхідність верифікації ефективності та безпечності комбінацій рослинних субстанцій з протидіабетичними препаратами.

Раніше було показано, що за поєднаного застосування метформіну з настойкою яглиці звичайної (ЯЗ, *Aegorodium podagraria* L., Аріасеае) його активність виявляється в менших дозах (зниження ефективної дози метформіну в інтактних щурів [2], пермісивний вплив відносно нормалізації обміну вуглеводів та ліпідів на тлі високої дози дексаметазону [3, 4], а також щодо нормалізації метаболізму глюкози в тварин з інсулінорезистентністю, спричиною низькими дозами дексаметазону та первинними порушеннями ліпідного обміну [4]).

Настойці ЯЗ *per se* притаманний сприятливий вплив на обмін вуглеводів, пуриновий обмін, а також нефропротекторні властивості [5, 6]. Антигіперглікемічну дію настойки після курсового введення верифіковано на моделі алоксанового діабету (АД) у мишей [7], також визначено її вплив на гістоструктуру печінки та нирок [8]. Оскільки

ки алоксанова модель залишається однією з базових для доклінічного вивчення потенційних протидіабетичних засобів [9–11], було доцільним використати її для додаткової верифікації ефективності комбінації настойки ЯЗ із метформіном. Ефективність метформіну за умов АД, яка пов'язана як з екстрапанкреатичними ефектами, так і з захисним впливом на підшлункову залозу (ПЗ), сьогодні доведено в численних роботах [12–14]. У період максимально виражених змін гістоструктури ПЗ, коли АД маніфестується в більшості щурів – через 72 год після введення алоксану [10, 14, 15] – досліджувана комбінація настойки ЯЗ (1 мл/кг) та метформіну (100 мг/кг) забезпечувала часткову нормалізацію стану панкреатичних островців з протидією загибелі клітин, а також надмірній проліферації в місцях типового розташування α -клітин (останній ефект на тлі монотерапії не виявлявся). Комбінація повною мірою перешкоджала змінам гістоструктури печінки та не змінювала здатність метформіну до нормалізації структури судинної стінки. У цих тварин також частково відновлювалися інсулінемія та коефіцієнт інсулінорезистентності, вплив на глікемію в досліджені терміни не сягав достовірного рівня (у разі вимірів за умов наркозу) [16], хоча у віддалені терміни АД настойка чинила вірогідну гіпоглікемічну дію в мишей (за вимірів базальної глікемії) [7]. З урахуванням цих результатів і з огляду на багатогранну фармакодинаміку настойки ЯЗ, яка включає нефропротекторну дію [5, 7], та політропність ефектів метформіну [12, 13, 17], було доцільним визначити вплив поєднаного застосування настойки

яглиці звичайної та метформіну на гістоструктуру та функції нирок у ранні терміни АД у щурів, що й стало *метою дослідження*. Це дослідження також важливе для верифікації безпечності комбінації.

Матеріали та методи. Настойку ЯЗ одержано за стандартною технологією відповідно до вимог ДФУ (детально розглянуто в джерелах [3, 5]).

Досліди проведено на рандомбредних щурах-самцях масою 150–190 г з дотриманням рекомендацій Європейської конвенції з питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Щурів було рандомізовано на 5 груп ($n = 8-14$): група I – інтактний контроль (ІК, 0,9 % розчин натрію хлориду підшкірно (п/ш) + питна вода внутрішньошлунково (в/ш)); група II – модельна патологія (МП, АД + питна вода в/ш); група III – АД + метформін, 100 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о); група IV – АД + настойка ЯЗ, 1 мл/кг в/ш; група V – АД + метформін, 100 мг/кг в/о + настойка ЯЗ, 1 мл/кг в/ш.

АД відтворювали одноразовим п/ш введенням алоксану моногідрату (Sigma, USA) у дозі 150 мг/кг [11] (з урахуванням ефективності цієї дози в попередніх дослідах [12]), за 16 год до введення тварин позбавляли корму, але не питної води. Протягом 1 доби після введення алоксану щури мали доступ до споживання 5 % розчину глюкози для попередження надмірної гіпоглікемії впродовж гострої фази ураження панкреатичних островців з вивільнення інсуліну.

Першу дозу настойки ЯЗ вводили за 40–50 хв до введення алоксану, першу дозу метформіну – через 40–50 хв після нього (з метою мінімізації фармакокінетичних взаємодій). Дози настойки ЯЗ та метформіну обрано як ефективні в експерименті [2–8] та [17] відповідно. Надалі ці препарати вводили 1 раз на 1 день. Щури груп ІК та МП одержували питну воду за аналогічною схемою.

На 3 день після введення досліджуваних препаратів визначали функцію нирок за умов водного діурезу (2-год збір сечі після навантаження питною водою в кількості 3 % маси тіла). На 4 день через

40–50 хв після введення препаратів наркотизованих тварин виводили з досліду та одержували плазму крові (антикоагулянт – гепарин *in vitro*), вилучали нирки. Термін дослідження обрано, виходячи з даних щодо максимальної вираженості змін ПЗ (гістологічно верифіковано в роботі [15]) та маніфестації АД у більшості щурів [10, 14].

У плазмі крові та в сечі визначали вміст креатиніну за реакцією з пікріновою кислотою, сечовини – за реакцією з діацетилмонооксимом, сечової кислоти (СК) – уриказним методом у плазмі крові та за реакцією з фосфорновольфрамовим реактивом – у сечі (стандартні набори НВП «Філісит-Діагностика» і ТОВ «СпайнЛаб»), натрію та калію в плазмі крові – методом фотометрії полум'я, білка в сечі – за реакцією з сульфосаліциловою кислотою. За загальноновживаними формулами розраховували екскрецію сечовини, СК, білка, натрію та калію, коефіцієнт Na^+/K^+ сечі, швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), відносну реабсорбцію води ($\text{R}_{\text{H}_2\text{O}}$) та іонів натрію, їхню проксимальну та дистальну реабсорбцію (R_{pNa^+} and R_{dNa^+}) [18].

Для оцінки стану прооксидантно-антиоксидантного балансу в гомогенатах нирок визначали вміст ТБК-реактивних (коефіцієнт молярної екстинкції триметинового комплексу $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); кількість SH-груп низькомолекулярних сполук (НМС, переважно відновлений глутатіон) за методом G. L. Ellman (коефіцієнт молярної екстинкції 2-нітро-5-тіобензоату – $1,4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) після висадження високомолекулярних сполук розчином кислоти сульфосаліцилової. Також встановлювали активність каталази (коефіцієнт молярної екстинкції перекису водню $2,22 \cdot 10^4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) та активність СОД за інгібуванням автоокиснення адреналіну. Виміри здійснено на спектрофотометрі СФ-26.

Фрагменти нирок фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заливали в парафін. Зрізи фарбували гематоксилином та еозином. Перегляд і фотографування препаратів здійснено на мікроскопі «Granum DCM 310» з

цифровою камерою «Granum DCM 310» (комп'ютер Pentium 2,4GHz, програма TourView).

Зважаючи на сучасні підходи до обробки результатів фармакологічних досліджень [19], обраховано медіани, 25 та 75 % процентиля, крім того, надано середні арифметичні та їхні стандартні помилки ($M \pm m$). Центральні тенденції незалежних виборок порівнювали за критерієм U Манна-Уїтні, зв'язок між окремими показниками – за коефіцієнтом кореляції Спірмена ρ .

Результати та їх обговорення. У досліджений період АД розвивалось ураження ПЗ з деструктивними змінами та загибеллю в місцях типової локалізації β -клітин та інтенсифікацією проліферації в місцях типової локалізації α -клітин [16] з імовірною гіперглюкагонемією. Це призводило до значної гіперглікемії на тлі п'ятиразового зменшення інсулінемії та зниження коефіцієнта інсулінорезистентності. Відомо, що селективність токсичної дії алоксану є відносною [9], у печінці нелікованих щурів з АД у період дослідження за збереження балкової структури зростала кількість гепатоцитів з типовими ознаками апоптозу, у деяких тріадах розвивалося фібринодне набухання судинної стінки артерії, плазморрагії, помірна клітинна мононуклеарна інфільтрація жовчних протоків [16]. Отримані в даному дослідженні результати узгоджуються з даними щодо безпосередньої токсичної дії алоксану на клітини ниркових каналців, з

якою навіть пов'язують летальність тварин [9]. Так, на відміну від даних групи ІК, в якій спостерігали нормальну гістоструктуру нирок, у групі МП практично в усіх щурів знайдені зміни каналцевого апарату, переважно в обох частинах петлі Генле (локалізація в зовнішній зоні кори), у деяких випадках зміни реєстрували в поодиноких чи малочисельних проксимальних каналцях нефронів. Вираженість змін варіювала від помірної гідропічної вакуолізації клітин (про яку свідчили звуження просвіту каналців, зміщення ядер до периферії, поява в цитоплазмі вакуолей, рис. 1) до деструкції, дезорганізації, проліферації нефроцитів. За виразної дезорганізації нефротелію в просвіті каналців помічена значна кількість клітин з ознаками апоптотичних змін (виражено ацидофільна цитоплазма та конденсація й фрагментація ядра), значно інтенсифіковано мітоз (рис. 2).

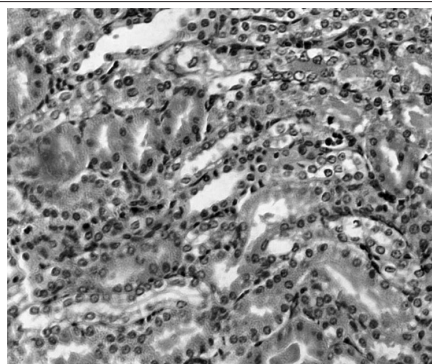


Рис. 1. Нирка щура з алоксановим діабетом групи модельної патології. Помірна гідропічна вакуолізація нефроцитів у петлях Генле. Гематоксилін-еозин. $\times 300$

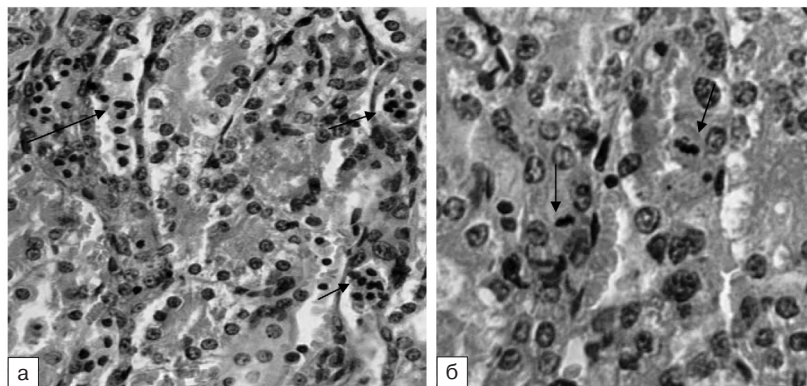


Рис. 2. Нирка щура з алоксановим діабетом групи модельної патології: а – дезорганізація нефротелію петель Генле, клітини з ознаками апоптотичних змін, у просвіті каналців ($\times 250$); б – мітоз (стрілки) у нефроцитах ($\times 400$). Гематоксилін-еозин

Щодо стану клубочкового апарату, у більшості препаратів тварин групи МП судинні клубочки та їхні капсули зберігали типову будову. Але у деяких щурів судинний клубочок повністю заповнював капсулу, мезангіальні клітини проліферували; клубочки мали вигляд ущільнених або цілком зморщених округлих утворень, поодинокі клубочки були зруйновані цілком чи частково (рис. 3).

У нирках тварин, лікованих метформіном, були відсутні зміни капілярів клубочків. Але в 60 % щурів, у кортико-медулярній зоні, в області петлі нефронів, рідко – у проксимальній частині каналців нефронів простежена вакуолізація, іноді дезорганізація нефротелію. Просвіт частини каналців розширений, частково або повністю виповнений гіаліновими циліндрами. Стінка частини каналців вистелена

сплощеними епітеліальними клітинами, що в деяких з них злущувалися (рис. 4). Мікроскопічна картина нагадує картину «ниркової струми, або цитоподібної нирки».

У нирках усіх щурів, які одержували настійку, як і в лікованих метформіном щурів, на противагу тваринам групи МП відсутні зміни капілярів клубочків, їхнього розміру та просторової структури. На відміну від груп МП та монотерапії метформіном, у цих тварин також спостерігали нормальну гістоструктуру каналців, яка не мала суттєвих розбіжностей з ІК. Не виявлено ознак деструкції, дезорганізації, дистрофії та проліферації клітин у межах петлі Генле (рис. 5).

У нирках тварин, яким вводили досліджувану комбінацію, як і в інших групах лікованих тварин, змін структури клубочків не спостерігали. У 50 %

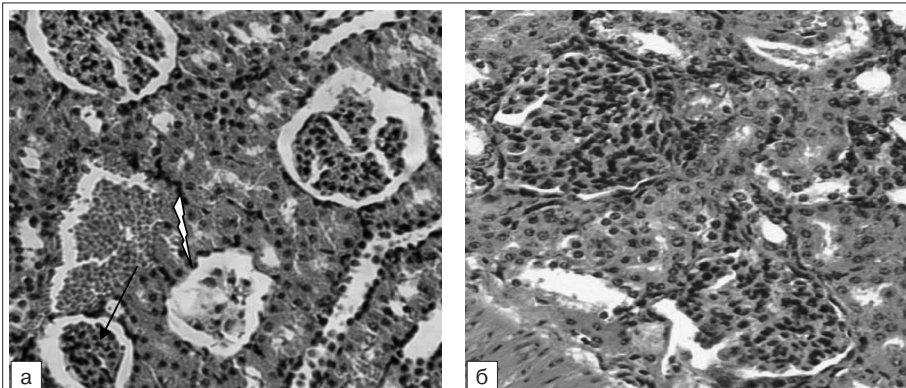


Рис. 3. Нирка щура з алоксановим діабетом групи модельної патології: а – видно ущільнений зморщений судинний клубочок (стрілка чорна), частково зруйнований (стрілка біла) і незмінні клубочки; б – судинні клубочки заповнюють всю порожнину капсули, проліферація мезангіальних клітин. Гематоксилін-еозин. $\times 200$

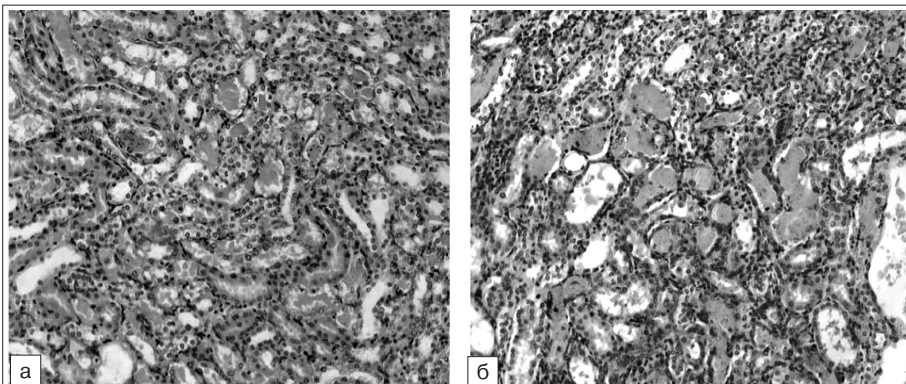


Рис. 4. Нирка щура з алоксановим діабетом, який одержував метформін. Канальці різних частин нефронів (а – кіркової речовини, б – кортико-медулярної зони) заповнені гіаліновими циліндрами, епітелій вакуолізований, місцями злущений. Гематоксилін-еозин. $\times 200$

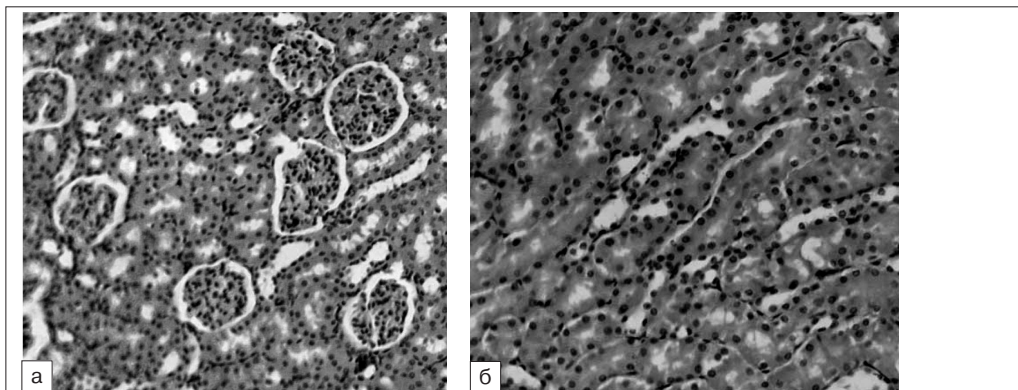


Рис. 5. Нирка щура з алоксановим діабетом, який одержував настойку яглиці звичайної. Нормальна структура клубочків (а, $\times 200$) та нефротелію проксимальних, дистальних частин каналців, петель Генле (б, $\times 250$). Гематоксилін-еозин

щурів відсутні зміни й у каналцях (рис. 6а), у решти зміни подібні до таких, що наявні на тлі метформіну: вакуолізація та дезорганізація нефротелію в кортико-медулярній зоні, в області петлі нефронів, просвіт деяких каналців розширений, вивпнених гіаліновими циліндрами, у поодиноких каналцях епітеліальні клітини злущуються в просвіт (рис. 6б).

Отже, незважаючи на протидію розвитку уражень каналців та апоптотичним змінам нефротелію, на тлі метформіну (як *per se*, так і в поєднанні з настойкою) у просвіті каналців виявлялися гіалінові циліндри. Віддавна відомо, що вони мають каналцеве походження (що узгоджується з відсутністю патологічних змін клубочків у нашому дослідженні), оскільки складаються переважно з білка Тамма-Хорсфалла [20] – глікопротеїна, що

синтезується епітелієм у товстому висхідному сегменті петлі Генле. Здатність цього білка до формування структур типу «колоїдного матриксу», яка дозволяє протидіяти конкрементоутворенню, поєднується з можливістю полімеризації з наступним формуванням циліндрів за зростання його рівня, підвищення осмолярності (тобто концентрованої первинної сечі) чи зниження рН каналцевої рідини [21]. Такі явища були наявні в групах, лікованих метформіном (табл. 1): за стабільного рівня натрію в плазмі крові його відносна реабсорбція на тлі монотерапії метформіном була достовірно нижчою, ніж у групі МП, на відміну від групи МП, достовірно зменшувався дистальний транспорт натрію, його екскреція мала стійку тенденцію до зростання. За таких умов можливо, що більша осмотична концентрація первинної сечі

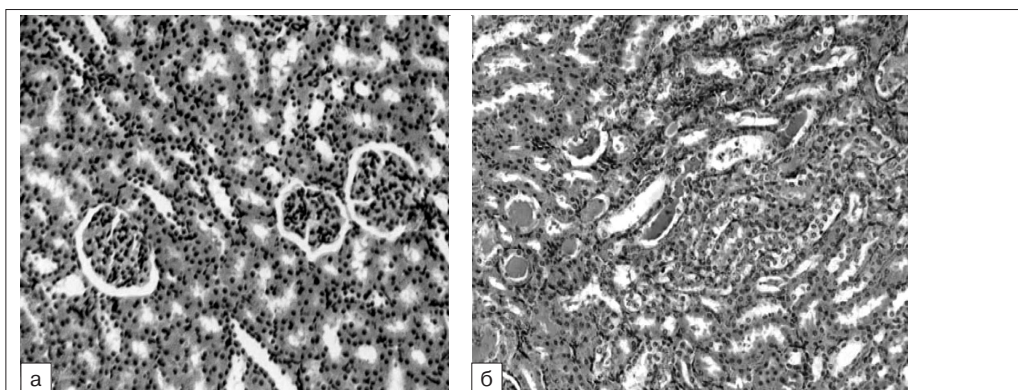


Рис. 6. Нирка щура з алоксановим діабетом, який одержував настойку яглиці звичайної в поєднанні з метформіном: а – нормальний стан клубочків та каналців; б – вакуолізація, дезорганізація нефротелію частини каналців кортико-медулярної зони, петель нефронів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$

створювала передумови для полімерізації білка Тамма-Хорсфалла. Прогностична значущість цих змін не є абсолютною з огляду на те, що вони відбувалися в найгострішому періоді АД, а гіалінові циліндри, хоча й залишаються маркером ураження нирок за наявності в значній кількості, однак можуть виявлятися й за відсутності ниркової патології, у тому числі на тлі дегідратації [22], що узгоджується з розглянутими вище зсувами процесів реабсорбції та вмістом електролітів у каналцевій рідині.

Недостатня захисна дія метформіну відносно епітелію каналців (апопто-тично змінені клітини не виявлялися, однак у деяких випадках злуцнення епітеліальних клітин мало місце) може бути зумовленою відносно низькою дозою та особливостями моделі. Так, відомо, що навіть за тривалішого введення (28 днів) метформіну щурам із АД не відбувалося нормалізації гісто-структури нирок [23]. Поряд з цим сучасні дані свідчать на користь відсутності токсичної дії метформіну на нирки, навпаки, широко обговорюється його нефропротекторна дія, що в перспективі розширює сферу застосування [24, 25]. З огляду на розглянуті вище зміни структури нирок важливо, що за умов інших моделей метформін попереджував формування гіалінових циліндрів у собак після унілатеральної обструкції уретри [26] та в щурів із гентаміциновою нефропатією, що привертає особливу увагу з огляду на спрямованість нефротоксичної дії гентаміцину саме на епітелій каналців з первинним ураженням щіткової облямівки [27] і непрямо вказує на те, що наявність гіалінових циліндрів, ймовірно, віддзеркалює тимчасові зсуви складу первинної сечі та не є прогностично несприятливою.

Нефропротекторна дія метформіну може бути не асоційованою з впливом на АМРК [24], тим часом як цей вплив може бути спрямованим на процеси каналцевого транспорту: показана модульовальна дія на Na^+/H^+ транспортер, епітеліальні Na^+ канали, $\text{Na}^+-2\text{Cl}^--\text{K}^+$ котранспортер, АТФ-залежні калієві канали [28] з можливістю модуляції

клубочково-каналцевого балансу [29] та відповіді на зміни сольового складу раціону [30]. Можна припустити, що використаної дози метформіну достатньо саме для модуляцій транспортних систем за рахунок впливу на АМРК, але не для нефропротекторної дії за іншими механізмами. На це вказують зміни парціальних функцій нирок.

У всіх групах тварин, яким вводили алоксан, виявлялася тенденція до зниження ШКФ (табл. 1, відповідно зменшувався фільтраційний заряд натрію на тлі практично незмінної натріємії) та до зростання креатинінемії (у межах 5–27 %, за значної міжіндивідуальної варіабельності в групах МП та монотерапії метформіном та меншої варіабельності в групах, які одержували настойку, за рахунок чого підвищення було достовірним). Реабсорбція води практично не змінювалася в групах МП та на тлі метформіну *per se* і навіть дещо зростала на тлі комбінації, тому діурез в обох групах щурів, що одержували метформін, знижувався (достовірно на тлі комбінації). У літературі є дані щодо можливості зменшення діурезу та кліренсу креатиніну на тлі метформіну в тварин з діабетом [31] (хоча в цьому дослідженні використана значно вища доза метформіну 350 мг/кг).

На відміну від груп, лікованих метформіном, у групі тварин на тлі настойки *per se* реабсорбція води знижувалася (табл. 1, $p < 0,05$ відносно показника групи МП; $p = 0,08$ відносно показника ІК), що сприяло підтриманню діурезу. Аналогічні результати отримано раніше на мишах з АД за тривалішого введення настойки [32]. Підтримання значного потоку каналцевої рідини, ймовірно, попереджувало формування гіалінових циліндрів. За комбінації з метформіном цей вплив настойки на реабсорбцію води не виявлявся, що також співвідноситься з гістологічною картиною. Від’ємна кореляція між діурезом та креатиніном сечі в цій групі, як і в ІК, не виявлялася (табл. 1).

У всіх групах тварин з АД на тлі зменшеної ШКФ та фільтраційного заряду натрію зберігалася падіння проксимального транспорту цього катіона, дистальний транспорт також зменшувався,

Таблиця 1

**Показники видільної функції нирок та натріємії в щурів з алоксановим діабетом за впливу настойки яглиці звичайної та метформіну, Q50, (Q25; Q75),
M ± m; n = 6–12**

Показник	Інтактні тварини	Алоксановий діабет (модельна патологія)	Алоксановий діабет + Метформін, 100 мг/кг	Алоксановий діабет + Настойка яглиці, 1 мл/кг	Алоксановий діабет + Настойка яглиці, 1 мл/кг; + Метформін, 100 мг/кг
Діурез, мл/100 г за 2 год	2,38 (1,92–2,89) 2,42 ± 0,22	2,00 (1,35–2,39) 1,95 ± 0,16	1,88 (1,38–2,39) 2,04 ± 0,31	2,41 (2,23–2,91) 2,51 ± 0,33	1,70 *** (1,51–1,75) 1,65 ± 0,08
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/хв на 100 г	0,433 (0,286–0,594) 0,485 ± 0,107	0,334 (0,250–0,367) 0,317 ± 0,029	0,264 (0,205–0,422) 0,317 ± 0,049	0,227 (0,175–0,288) 0,260 ± 0,056	0,280 (0,225–0,409) 0,354 ± 0,100
Реабсорбція води, %	94,32 (93,66–96,80) 94,97 ± 0,85	94,70 (92,35–95,80) 93,84 ± 0,98	94,40 (93,68–95,27) 94,25 ± 0,70	90,49# (89,35–93,66) 91,23 ± 1,25	95,11 (94,03–96,34) 95,25 ± 1,16
Фільтраційний заряд Na ⁺ , ммоль/хв на 100 г	67,6 (40,2–92,3) 69,6 ± 15,3	47,5 (38,6–55,3) 49,7 ± 4,42	36,6 (30,0–67,1) 45,80 ± 7,69	34,7 (28,7–43,0) 38,4 ± 6,61	47,1 (33,0–57,7) 52,7 ± 11,7
Відносна реабсорбція Na ⁺ , %	99,70 (99,24–99,77) 99,49 ± 0,19	99,71 (99,56–99,78) 99,64 ± 0,07	99,20# (98,91–99,66) 99,18 ± 0,17	98,97 (98,36–99,26) 98,83 ± 0,30	99,40 (99,31–99,52) 99,24 ± 0,32
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/2 год	8,98 (6,32–11,3) 9,01 ± 1,85	5,38 (4,34–6,45) 5,65 ± 0,52	4,28 (3,41–7,59) 5,22 ± 0,90	3,77* (3,04–4,60) 4,22±0,76	4,58 (3,65–6,86) 5,93±1,81
Дистальний транспорт Na ⁺ , ммоль/2 год	356 (251–386) 327,0 ± 37,9	282 (248–340) 294,0 ± 27,1	198* (188–293) 224,0 ± 24,8	389 (299–406) 342,0 ± 56,1	177*# (137–223) 183,0 ± 28,6
Екскреція Na ⁺ , ммоль/100 г за 2 год	24,9 (14,9–34,8) 33,4 ± 11,4	23,4 (10,4–33,7) 25,20 ± 4,36	34,7 (12,2–64,5) 48,9 ± 14,7	33,8 (23,0–68,5) 47,4 ± 11,8	26,9 (21,7–78,4) 44,1 ± 14,3
Екскреція K ⁺ , ммоль/100 г за 2 год	53,0 (27,1–101) 65,5 ± 16,7	31,7 (21,4–54,3) 36,40 ± 4,51	33,7 (28,6–41,6) 43,2 ± 10,4	31,1 (23,9–57,1) 40,50 ± 9,35	19,2 (16,5–51,0) 42,0 ± 18,7
Коефіцієнт Na ⁺ /K ⁺ сечі	0,519 (0,34–0,73) 0,578 ± 0,11	0,564 (0,36–0,88) 0,731 ± 0,12	0,997* (0,67–1,10) 1,11 ± 0,259	1,08** (1,01–1,46) 1,26 ± 0,19	1,19* (0,71–1,32) 1,57 ± 0,65
Натрій плазми крові, ммоль/л	154 (144–158) 150,0 ± 4,16	149 (142–155) 148,0 ± 2,45	151 (145–157) 151,0 ± 3,14	152 (147–163) 154,0 ± 5,13	144 (143–147) 145,0 ± 1,01
Білок сечі, г/л	0,066 (0,062–0,072) 0,068 ± 0,004	0,101** (0,080–0,156) 0,129 ± 0,016	0,083* (0,079–0,172) 0,140 ± 0,034	0,079* (0,076–0,080) 0,092 ± 0,016	0,114* (0,077–0,201) 0,154 ± 0,043
Екскреція білка, мг/100 г за 2 год	0,17 (0,12–0,22) 0,17 ± 0,02	0,21 (0,18–0,23) 0,21 ± 0,01	0,17 (0,15–0,25) 0,20 ± 0,02	0,19 (0,17–0,22) 0,20±0,02	0,21 (0,13–0,35) 0,25 ± 0,06
Екскреція білка, мг/1 ммоль креатиніну	0,036 (0,026–0,060) 0,043 ± 0,008	0,059* (0,054–0,071) 0,065±0,005	0,061 (0,056–0,072) 0,069 ± 0,012	0,071* (0,063–0,088) 0,076 ± 0,008	0,056 (0,035–0,092) 0,072 ± 0,021
Коефіцієнт кореляції					
Діурез – креатинін сечі	–0,24 NS	–0,82 p < 0,01	–0,73 p < 0,02	–0,14 NS	–0,90 p < 0,05
Діурез – білок сечі	+0,33 NS	–0,85 p < 0,01	–0,82 p < 0,02	–0,61 NS	–0,15 NS

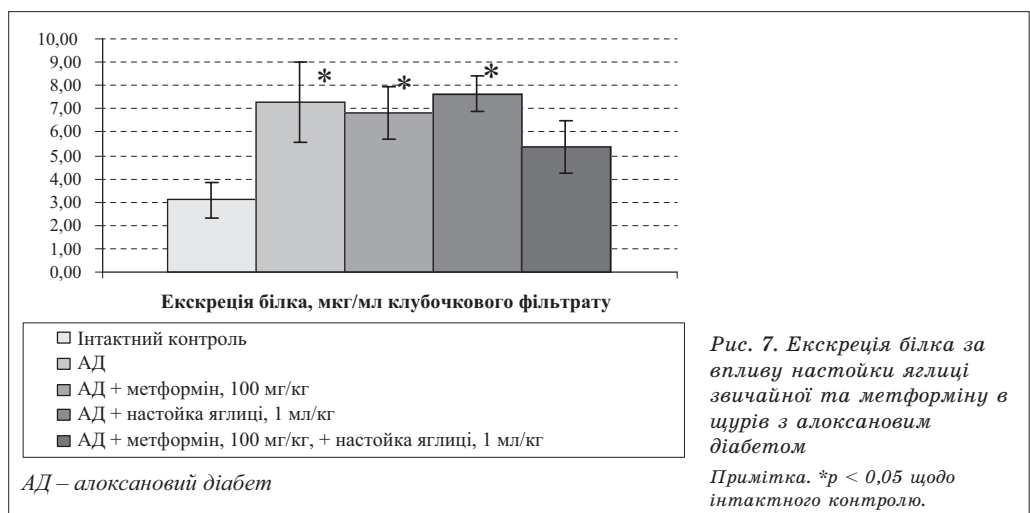
Примітка. Достовірні відмінності: з показниками інтактних тварин – *(p < 0,05), ***(p < 0,01); з показниками тварин групи модельної патології – *(p < 0,05), ***(p < 0,01); з показниками тварин, що одержували настойку – ^ (p < 0,05); n – кількість тварин у групах; NS – p > 0,05.

особливо виражено на тлі метформіну, тому екскреція натрію дещо зростала (за суттєвих міжіндивідуальних розбіжностей). У щурів, лікованих настойкою *per se*, дистальний транспорт натрію підтримувався на більш високому рівні ($p = 0,08$ відносно показника групи метформіну та $p = 0,09$ відносно показника групи, що одержувала комбінацію), однак це відбувалося на тлі більшого надходження натрію, проксимальний транспорт якого в цій групі був мінімальним. Тому екскреція натрію в цих щурів, як і в інших групах тварин з АД, тенденційно підвищувалася відносно МП. Екскреція калію зменшувалася в усіх групах тварин з АД, при цьому зростав коефіцієнт Na^+/K^+ сечі, що є ознакою послаблення мінералокортикоїдного контролю за дистальними каналцями. Щодо комбінації настойки з метформіном, то це є сприятливим, оскільки відомо, що за активації системи ренін-ангіотензин-альдостерон антигіперглікемічна дія метформіну може зменшуватися [31].

У всіх групах тварин з АД зростав уміст білка в сечі, його екскреція за 2 год збільшувалася не досить виражено з огляду на зниження діурезу ($p = 0,09$ у разі порівняння показників груп МП та ІК), однак, достовірне зростання виявлялося в групі МП, а також на тлі настойки *per se*, у разі перерахунку на кількість екскретованого креатиніну та об'єм клубочкового фільтрату (табл. 1, рис. 7). На тлі монотерапії настойкою тенденційно зменшувався лише вміст білка віднос-

но даних нелікованих тварин (це відповідає попереднім даним [32]). За умов монотерапії метформіном суттєвих відмінностей від даних групи МП не спостерігали в усіх випадках. Від'ємний кореляційний зв'язок між діурезом та вмістом білка не виявлявся в тварин з АД, лікованих настойкою (як і в групі ІК), на відміну від груп МП та монотерапії метформіном (табл. 1). Більш сприятливі результати реєстрували на тлі комбінації цього препарату з настойкою: у цій групі кількість білка в перерахунку на 1 мл клубочкового фільтрату була найменшою серед усіх груп тварин з АД та достовірно не відрізнялася від показника ІК, за відсутності достовірних міжгрупових відмінностей рівня ШКФ (хоча абсолютний показник вмісту білка в сечі залишався підвищеним). Переваги комбінації перед монотерапією настойкою чи метформіном відносно нормалізації протеїнурії, у тому числі ферментурії, також встановлені на тлі надвисокої дози дексаметазону [33].

У досліджувані терміни АД суттєвої гіперазотемії не спостерігали, виходячи як з умісту креатиніну в крові, так і з умісту в ній сечовини (табл. 2), останній показник у групі МП був варіабельним. Водночас, хоча вміст сечовини в крові тенденційно підвищувався в усіх групах з АД, не відбувалося зростання ниркової екскреції сечовини та її кліренсу, що узгоджується з розглянутими вище змінами функції нирок. Відносне збільшення діурезу на тлі настойки *per se* також не супроводжувалося зростанням



Таблиця 2

Обмін сечової кислоти та сечовини в щурів з алоксановим діабетом за впливу настойки яглиці звичайної та метформіну, Q50, (Q25; Q75), $M \pm m$; $n = 6-12$

Показник	Інтактні тварини	Алоксановий діабет (модель-на патологія)	Алоксановий діабет + Метформін, 100 мг/кг	Алоксановий діабет + Настойка яглиці, 1 мл/кг	Алоксановий діабет + Настойка яглиці, 1 мл/кг; + Метформін, 100 мг/кг
Сечовина плазми крові, ммоль/л	4,85 (4,50–5,19) 4,82 ± 0,23	6,14 (4,64–10,8) 13,8 ± 6,98	6,07 (4,96–7,50) 6,76 ± 1,20	5,58 (4,48–6,96) 6,61 ± 1,25	6,34 (5,62–7,25) 7,06 ± 0,99
Екскреція сечовини, ммоль/100 г за 2 год	0,18 (0,15–0,31) 0,24 ± 0,05	0,21 (0,17–0,26) 0,21 ± 0,02	0,16# (0,10–0,18) 0,14 ± 0,02	0,16 (0,12–0,22) 0,20 ± 0,05	0,18 (0,14–0,20) 0,17 ± 0,02
Кліренс сечовини, мл/хв на 100 г	0,306 (0,285–0,423) 0,339 ± 0,054	0,234 (0,146–0,333) 0,254 ± 0,039	0,153* (0,127–0,255) 0,200 ± 0,039	0,208 (0,188–0,268) 0,235 ± 0,026	0,199 (0,149–0,275) 0,213 ± 0,030
Сечова кислота плазми крові, мкмоль/л	64,3 (58,1–77,8) 68,0 ± 4,90	70,6 (62,3–80,9) 73,60 ± 4,78	70,6 (57,1–83,0) 71,80 ± 5,33	91,3 (78,9–95,5) 96,3 ± 19,2	89,3 (75,8–107) 93,4 ± 13,6
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за 2 год	0,69 (0,60–0,78) 0,75 ± 0,10	0,85 (0,64–1,04) 0,85 ± 0,07	0,53 ## (0,49–0,61) 0,54 ± 0,04	0,51# (0,47–0,83) 0,60 ± 0,08	0,66 (0,41–0,89) 0,70 ± 0,20
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/1 мкмоль креатиніну за 2 год	0,165 (0,121–0,227) 0,195 ± 0,040	0,250 (0,228–0,303) 0,256 ± 0,020	0,181 (0,127–0,216) 0,174 ± 0,020##	0,211 (0,175–0,240) 0,211 ± 0,02-	0,181 (0,168–0,265) 0,189 ± 0,040

Примітка. Достовірні відмінності: з показниками інтактних тварин – * ($p < 0,05$); з показниками тварин групи модельної патології – # ($p < 0,05$); ## ($p < 0,01$); n – кількість тварин у групах.

екскреції цього метаболіту, хоча встановлена раніше [7, 32] можливість зниження кліренсу сечовини не виявлялася. На тлі метформіну *per se* екскреція та кліренс сечовини знижувалися, що було менш вираженим у разі його поєднання з настойкою. Отже, комбінація метформіну з настойкою не призводить до ретенції сечовини (це важливо також з огляду на встановлену в попередніх дослідях можливість зменшення кліренсу сечовини в мишей з АД на тлі настойки ЯЗ [7]). Неприятливого впливу комбінації на екскрецію продуктів азотистого обміну не спостерігали також за умов дексаметазон-індукованого посилення катаболічних процесів на тлі збереженої функції нирок [3, 4, 33].

Достовірної гіперурикемії в щурів з АД також не реєстрували, хоча вміст СК у крові тенденційно зростав у всіх групах. У нелікованих щурів підтримання нормоурикемії відбувалося на тлі тенденційно підвищеної ниркової екскреції СК ($p = 0,07$ відносно даних ІК за перерахунку на кількість екскретованого креатиніну), у всіх інших групах щурів з діабетом екскреція СК, особливо її абсолютний показник, зменшувалася відносно групи МП (статистично значущі відмінності спостерігали в групі метформіну внаслідок меншої міжіндивідуальної варіабельності показників). Це може вказувати на обмеження синтезу даного метаболіту, що раніше реєстрували як на тлі настойки [6, 34], так і на тлі метформіну [34] (хоча його

прямий пригнічувальний вплив на КСО не вважають клінічно значущим). За умов обмеженої функціональної спроможності нирок, що її ознаки розглянуто вище, такі зміни можна вважати сприятливими. У ранній період АД вміст СК у крові не корелює з глікемією в усіх групах, однак, як і у віддалені терміни АД [7]), на тлі настойки виявляється позитивна кореляція між СК та креатиніном крові $+0,70$ ($p > 0,05$), тобто вища урикемія спостерігається в тварин із більш вираженими порушеннями функції нирок, що вказує на відсутність залучення нирки до підтримання нормоурикемії (це також свідчить на користь обмеження синтезу СК). Зсуви урикемії в тварин з АД мають різну спрямованість залежно від терміну розвитку патології [7] та можуть бути зумовленими як змінами спроможності печінки до синтезу активної урикаси та порушеннями функції нирок (як основного шляху екскреції уратів), так і зсувами прооксидантно-оксидантного балансу, які в свою чергу можуть призводити як до надмірної активації ксантиноксидази з розвитком окиснювального стресу, особливо в межах судинного ендотелію, так і до вичерпання резервів уратів як одного з компонентів антиоксидантного захисту плазми крові. Раніше був встановлений нормалізуювальний характер впливу настойки ЯЗ на урикемію: у віддалені терміни АД у мишей вона наближує зменшений рівень СК у крові до показника інтактних тварин [7], тим часом як на моделі порушень пуринового обміну з різким підвищенням умісту СК у крові чинить достовірну гіпоурикемічну дію [6]. Відсутність зменшення урикемії в тварин з АД є позитивною ознакою, оскільки, згідно з сучасними вимогами, препарати, що застосовуються для нормалізації метаболізму за гіперурикемії та МС, не повинні спричиняти прогностично несприятливу гіпоурикемію [35] (за умов АД це також важливо в аспекті протидії окиснювальному стресу). Для остаточного висновку щодо механізмів змін обміну СК доцільне визначення активності ксантиноксидази.

Зсуви прооксидантно-антиоксидантного балансу нирок тварин з АД вира-

жалися в достовірному зростанні рівня ТБК-реактивних за незмінного вмісту SH-груп НМС (відновленого глутатіону) та активності антиоксидантних ферментів (табл. 3). Метформін, на відміну від настойки ЯЗ, знижував вміст ТБК-реактивних, що узгоджується з даними щодо його антиоксидантної активності, у тому числі в тварин з діабетом [12, 13]. У разі застосування досліджуваної комбінації цей показник суттєво не відрізнявся від такого на тлі метформіну за міжіндивідуальної варіабельності. Важливо, що настойка, яка містить БАР, здатна впливати на пероксидне окиснення ліпідів, за комбінації з метформіном не спричиняла негативних зсувів прооксидантно-антиоксидантного балансу. На тлі настойки *per se* з'являвся позитивний кореляційний зв'язок між вмістом ТБК-реактивних та активністю СОД, що може вказувати на посилення функції ферментів антиоксидантного захисту в тварин з найбільшою вираженістю окиснювального стресу. На тлі метформіну мав місце достовірний негативний зв'язок між активністю СОД та каталази, що за відсутності ознак прооксидантно-антиоксидантного дисбалансу може бути пов'язано з антиоксидантною дією метформіну.

Висновки

1. На 4 день після відтворення АД у нирках щурів виявляються зміни канальцевого апарату різного ступеня вираженості, ознаки апоптотичних змін та інтенсифікації мітозу, зміни судин клубочків та мезангіуму з руйнуванням окремих клубочків. Настойка яглиці (1 мл/кг в/ш) протидіє цим змінам. Метформін (100 мг/кг, в/о) попереджує зміни капілярів клубочків, однак не гістоструктури канальців. На тлі метформіну та його комбінації з настойкою яглиці в просвіті окремих канальців виявляються гіалінові циліндри, що за відсутності додаткових ознак нефротоксичності можна асоціювати з полімеризацією білка Тамма-Хорсфалла.
2. Настойка яглиці зменшує реабсорбцію води, що сприяє підвищенню діурезу (порівняно з показниками нелікованих тварин) та, ймовірно, попе-

Таблиця 3

Показники прооксидантно-антиоксидантного статусу тканин нирок щурів з алоксановим діабетом за впливу настойки яглиці звичайної та метформіну, Q50, (Q25; Q75), $M \pm m$; $n = 6-12$

Показник	Інтактні тварини	Алоксановий діабет (модель-на патологія)	Алоксановий діабет + Метформін, 100 мг/кг	Алоксановий діабет + Настойка яглиці, 1 мл/кг	Алоксановий діабет + Настойка яглиці, 1 мл/кг; + Метформін, 100 мг/кг
Уміст ТБК-реактивів, нмоль/ г вологої тканини	79,6 (68,3–94,5) $81,0 \pm 10,2$	120* (110–122) $115,0 \pm 6,86$	101# (67,2–110) $91,10 \pm 8,54$	118 (89,5–144) $119,0 \pm 14,0$	84,0 (59,4–126) $91,2 \pm 16,4$
Уміст SH-груп низькомолекулярних сполук, мкмоль/ г вологої тканини	0,46 (0,37–0,69) $0,52 \pm 0,08$	0,48 (0,42–0,63) $0,54 \pm 0,07$	0,41 (0,29–0,46) $0,40 \pm 0,04$	0,41 (0,35–0,48) $0,40 \pm 0,04$	0,44 (0,44–0,59) $0,50 \pm 0,07$
Активність каталази, мккат/ г вологої тканини	24,5 (22,6–25,0) $23,30 \pm 1,07$	22,4 (21,2–24,3) $22,20 \pm 0,80$	23,8 (19,6–24,7) $21,70 \pm 1,71$	23,9 (23,7–24,2) $23,80 \pm 0,28$	22,4 (22,1–24,0) $22,80 \pm 0,63$
Активність супероксиддисмутази, УО/ г вологої тканини за хв	106 (91,4–163) $122,0 \pm 14,7$	103 (76,5–116) $98,70 \pm 7,15$	102 (89,8–137) $107,0 \pm 12,4$	84,9 (77,0–121) $96,5 \pm 16,7$	123 (67,2–133) $101,0 \pm 15,3$
<i>Коефіцієнти кореляції</i>					
Уміст ТБК-реактивів – активність супероксиддисмутази	–0,64 NS	+0,23 NS	–0,21 NS	+0,78 NS ($p = 0,07$)	–0,64 NS
Активність каталази – активність супероксиддисмутази	–0,34 NS	+0,15 NS	–0,90 $p < 0,01$	–0,21 NS	+0,23 NS

Примітка. Достовірні відмінності: з показниками інтактних тварин – * ($p < 0,05$); з показниками тварин групи модельної патології – # ($p < 0,05$); n – кількість тварин у групах; NS – $p > 0,05$.

редженню формування гіалінових циліндрів. На тлі метформіну (як *per se*, так і в комбінації з настойкою) цей вплив не виявляється. У всіх групах лікованих тварин екскреція натрію тенденційно підвищується порівняно з групою МП, однак настойка *per se* підтримує дистальний транспорт натрію на вищому рівні, ніж на тлі метформіну, за зменшення проксимального транспорту цього катіона. Екскреція калію знижується в усіх групах тварин з АД, коефіцієнт Na^+/K^+ сечі зростає, що вказує на відсутність активації альдостеронового контролю транспорту електролітів.

3. У тварин з АД збільшується вміст білка в сечі, комбінація метформіну з настойкою яглиці чинить антипротеї-

нуричну дію за показником кількості екскретованого білка за відсутності достовірних відмінностей рівня ШКФ порівняно з інтактним контролем.

4. У досліджувані терміни АД гіперазотемія не виявляється, досліджувані препарати не чинять несприятливого впливу на обмін сечовини та зменшують екскрецію сечової кислоти, що на тлі незмінної урикемії вказує на обмеження її синтезу.

5. У нирках тварин з АД підвищується вміст ТБК-реактивів, метформін та його комбінація з настойкою яглиці чинять антиоксидантну дію, зменшуючи цей показник до рівня інтактних тварин, на тлі незмінної активності каталази та СОД, а також умісту SH-груп низькомоле-

кулярних сполук.

1. Interactions between herbs and antidiabetics: an overview of the mechanisms, evidence, importance, and management // S. U. Rehman, M. S. Choi, K. Choe, H. H. Yoo // Arch. Pharm. Res. – 2015. – V. 38. – P. 1281–1298.
2. Tovchiga O. V. Effects of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) preparations on glycemia in the intact rats and against the background of metformin / O. V. Tovchiga // Вісник фармації. – 2017. – № 2 (90). – С. 54–62.
3. Tovchiga O. V. The influence of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) tincture and metformin on the carbohydrate and lipid metabolism in dexamethasone-treated rats / O. V. Tovchiga // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2016. – V. 16. – Art. 235.
4. Товчига О. В. Эффективность сочетанного воздействия настойки сныти обыкновенной и метформина на обмен глюкозы / О. В. Товчига // «Фундаментальная наука в современной медицине – 2017»: сб. матер. сателл. дист. научно-практ. конф. (г. Минск, 28 мая 2017 г.). – С. 360–365.
5. Патент UA 104448 на винахід, МПК А61К 36/23 (2006.01), А61К 135/00, А61Р 3/10 (2006.01) / Застосування 20 % настойки яглиці звичайної на 70 % спирті етиловому як засобу з гіпоглікемічною дією / О. В. Товчига, С. Ю. Штриголь, С. І. Степанова. – № а 2011 09246; Заявл. 25.07.11; Надрук. 10.02.2014. – Бюл. № 3/2014. – 4 с.
6. Койро О. О. Роль біологічно активних речовин яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) у нефропротекторній, гепатопротекторній та гіпоурикемічній дії : автореф. дис. на здобуття вченого ступеня канд. фарм. наук. – Харків, 2014. – 20 с.
7. Товчига О. В. Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) на метаболічні процеси в мишей з алоксановим цукровим діабетом / О. В. Товчига // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5. – С. 73–78.
8. Histopathological changes of the kidneys and liver in alloxan-induced diabetic mice treated with goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) medicines / O. V. Tovchiga, V. O. Synytsia, S. Yu. Shtrygol', N. V. Besditko // Клінічна фармація. – 2014. – Т. 18, № 2. – С. 22–28.
9. Toxicology of the endocrine pancreas; ed. Parviz M. Pour. – Boca Raton : Taylor & Francis, 2006. – P. 561–561.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.
11. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays; H. G. Vogel (Ed.). – 3rd ed. – Berlin. – Heidelberg; New York : Springer, 2008. – P. 1329.
12. Сравнительный анализ эффективности N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамида), диакамфа гидрохлорида и метформина в остром периоде аллоксанового сахарного диабета у крыс / Е. Н. Калапко, С. Ю. Штрыголь, Т. В. Горбач [и др.] // Вестник фармації. – 2016. – № 3. – С. 67–76.
13. Comparative study of the antioxidant effects of metformin, glibenclamide, and repaglinide in alloxan-induced diabetic rats / O. B. Chukwunonso, O. T. Chinwuba, V. E. Okpashi [et al.] // J. Diabetes Res. – 2016. – V. 2016. – Art. 1635361.
14. Pathak A. K. A comparative study of antidiabetic effect of bromocriptine and metformin in alloxan-induced diabetic rats / A. K. Pathak, P. K. Sinha, J. Sharma // Int. J. Pharm. Sci. Res. – 2013. – V. 4, № 9. – P. 3653–3658.
15. Алеева Г. Н. Клеточные механизмы развития гипергликемии и ее фармакологическая коррекция при аллоксановом диабете (экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук. / Г. Н. Алеева. – Казань, 2003. – 17 с.
16. Tovchiga O. V. The efficacy of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) tincture and metformin combination in the early stages of alloxan-induced diabetes in rats // O. V. Tovchiga, S. Yu. Shtrygol', Yu. B. Laryanovskaya // ARC J. Diab. Endocrinol. – 2017. – V. 4. – № 4. – P. 6–17.
17. Effect of Cichorium intybus L. seed extract on renal parameters in experimentally induced early and late diabetes type 2 in rats // Y. Pourfarjam, L. Rezagholizadeh, A. Nowrouzi [et al.] // Ren Fail. – 2017. – V. 39. – P. 211–221.
18. Рябов С. И. Функциональная нефрология / С. И. Рябов, Ю. В. Наточин. – Санкт-Петербург : Лань, 1997. – 304 с.
19. Beyond bar and line graphs: time for a new data presentation paradigm / T. L. Weissgerber, N. M. Milic, S. J. Winham, V. D. Garovic // PLoS Biol. – 2015. – V. 13, № 4. – Art. e1002128.
20. Lindner L. E. Hyaline casts in the urine: mechanism of formation and morphologic transformations / L. E. Lindner, M. H. Haber // J. Clin. Pathol. – 1983. – V. 80. – P. 347–352.
21. Белок Тамма-Хорсфалла – потенциальный маркер ранних стадий мочекаменной болезни и рецидивного камнеобразования / С. Х. Аль-Шукри, Е. Т. Голощапов, Ю. В. Эмануэль, М. И. Горбачев // Урологические ведомости. – 2014. – Т. II, № 1. – С. 26–28.
22. Caleffi A. Cylindruria / A. Caleffi, G. Lippi // Clin. Chem. Lab. Med. – 2015. – V. 53, Suppl. 2. – P. s1471–s1477.
23. Metformin-cefixime co-administration affects glucose regulation and reno-pancreatic histology in alloxan-induced hyperglycemic rats / C. O. Olurishe, O. A. Salawu, A. U. Zezi [et al.] // J. Pharma Sci Tech. – 2013. – V. 3. – P. 43–50.

24. Renoprotective effects of metformin are independent of organic cation transporters 1 and 2 and AMP-activated protein kinase in the kidney / M. Christensen, J. B. Jensen, S. Jakobsen [et al.] // Sci. Rep. GOD – 2016. – V. 6. – Art. 35952.
25. Ahmadi F. Renoprotective effect of metformin / F. Ahmadi, A. Mohebi-Nejad // Iranian J. Kidney Dis. – 2013. – V. 7, № 6. – P. 417–418.
26. Effect of metformine (glucophage) on renal function after complete unilateral ureteral obstruction in dog / Mehrdad Neshat Garamaleki, Davoud Kazemi, Hamoun Heydarinegad, Saeid Safarmashae // Am-Euras. J. Toxicol. Sci. – 2012. – V. 4, № 1. – P. 6–10.
27. Baradaran A. Histopathological study of the combination of metformin and garlic juice for the attenuation of gentamicin renal toxicity in rats / A. Baradaran, M. Rafieian-Kopaei // J. Renal Inj. Prev. – 2013. – V. 2. – P. 15–21.
28. Pastor-Soler N. M. AMP-activated protein kinase regulation of kidney tubular transport / N. M. Pastor-Soler, K. R. Hallows // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. – 2012. – V. 21, № 5. – P. 523–533.
29. In vivo stimulation of AMP-activated protein kinase enhanced tubuloglomerular feedback but reduced tubular sodium transport during high dietary NaCl intake / D. Y. Huang, H. Gao, K. M. Boini [et al.] // Pflugers Arch. – 2010. – V. 460 (1). – P. 187–96
30. Regulation of the energy sensor AMP-activated protein kinase in the kidney by dietary salt intake and osmolality / S. Fraser, P. Mount, R. Hill [et al.] // Am. J. Physiol. Renal Physiol. – 2005. – V. 288, № 3. – P. F578–F586.
31. Owolabi O. J. Effect of metformin on potassium adapted and non-adapted diabetic rats / O. J. Owolabi, E. K. Omogbai // Trop. J. Pharm. Res. – 2012. – V. 11, № 5. – P. 747–752.
32. Товчига О. В. Влияние препаратов сняти обыкновенной (*Aegopodium podagraria* L.) на функциональное состояние почек у мышей с аллоксановым сахарным диабетом / О. В. Товчига, С. Ю. Штрыголь // Матер. междунар. научн. конф. «Физиология и патология почек и водно-солевого обмена», посв. 100-летию со дня рожд. проф. Н. Н. Прониной (19–20 декабря 2012 г.). – Владикавказ : ИПК «Литера», 2012. – С. 197–202.
33. Renal effects of goutweed tincture and metformin in dexamethasone-treated rats / O. V. Tovchiga, S. Yu. Shtrygol', A. V. Taran, T. K. Yudkevich // Клінічна фармація. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 39–45
34. Товчига О. В. Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) та метформіну на обмін сечової кислоти у щурів із порушеннями метаболізму, спричиненими протаміну сульфатом на тлі атерогенного раціону / О. В. Товчига // Клінічна фармація. – 2017. – Т. 21, № 4. – С. 22–30.
35. Kutzin M. K. Altered uric acid levels and disease states / M. K. Kutzin, B. L. Firestein // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2008. – V. 324. – P. 1–7.

О. В. Товчига, С. Ю. Штрыголь, Ю. Б. Лар'яновська

Вплив настойки яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) та метформіну на структуру та функцію нирок щурів з аллоксановим діабетом

Досліджено ренальні ефекти настойки яглиці звичайної *Aegopodium podagraria* L. (1 мл/кг внутрішньощлунково) та її комбінації з метформіном (100 мг/кг внутрішньочеревинно) у ранні терміни аллоксанового діабету (АД) (3–4 доба) у щурів за введення в лікувальному режимі.

Показано, що настойка протидіє змінам капілярів клубочків та канальцевого апарату, наявним у нелікованих тварин з АД. Метформін попереджує розвиток змін капілярів клубочків, однак не забезпечує нормалізацію гістоструктури канальців, у цій групі (а також у щурів, що одержували комбінацію метформіну з настойкою) у просвіті деяких канальців виявляються гіалінові циліндри, що асоційовано з полімеризацією білка Тамма-Хорсфалла за більшої осмотичної концентрації первинної сечі та за відсутності інших ознак нефротоксичності. Настойка яглиці *per se* протидіє формуванню гіалінових циліндрів за умов підвищеного діурезу за рахунок зменшеної реабсорбції води. У всіх групах лікованих тварин екскреція натрію підвищується порівняно з групою модельної патології (чітка тенденція), однак у щурів, лікованих настойкою *per se*, дистальний транспорт натрію підтримується на більш високому рівні, ніж на тлі метформіну, за зменшення проксимального транспорту цього катіона. Екскреція калію знижується в усіх групах тварин з АД, коефіцієнт Na^+/K^+ сечі зростає, що вказує на відсутність активації альдостеронового контролю за транспортом електролітів. Комбінація метформіну з настойкою яглиці чинить антипротеїнуричну дію за показником кількості екскретованого білка в перерахунку на 1 мл клубочкового фільтрату (за відсутності достовірних відмінностей рівня швидкості клубочкової фільтрації з інтактним контролем). Досліджувані препарати не чинять несприятливого впливу на обмін сечовини та зменшують екскрецію сечової кислоти, що на тлі незмінної урикемії вказує на обмеження її синтезу. У нирках тварин з АД підвищується вміст ТБК-реактивних, його зменшення наявне на тлі метформіну та його комбінації з настойкою.

Ключові слова: яглиця звичайна (*Aegopodium podagraria* L.), аллоксан, метаболізм глюкози, антигіперглікемічні засоби, метформін

О. В. Товчига, С. Ю. Штрыголь, Ю. Б. Ларьяновская

Влияние настойки сныти обыкновенной (*Aegopodium podagraria* L.) и метформина на структуру и функцию почек крыс с аллоксановым диабетом

Изучены ренальные эффекты настойки сныти обыкновенной *Aegopodium podagraria* L. (1 мл/кг внутривентрально) и ее комбинации с метформином (100 мг/кг внутривентрально) в ранние сроки аллоксанового диабета (АД) (3–4 сутки) у крыс при введении в лечебном режиме.

Показано, что настойка противодействует изменениям капилляров клубочков и канальцевого аппарата, имеющимся у нелеченных животных с АД. Метформин предотвращает развитие изменений капилляров клубочков, однако не обеспечивает нормализацию гистоструктуры канальцев, в этой группе (а также у крыс, получавших метформин в комбинации с настойкой) в просвете некоторых канальцев обнаруживаются гиалиновые цилиндры, что ассоциировано с полимеризацией белка Тамма-Хорсфалла на фоне большей осмотической концентрации первичной мочи при отсутствии других признаков нефротоксичности. Настойка *per se* противодействует формированию гиалиновых цилиндров в условиях повышенного диуреза за счет уменьшенной реабсорбции воды. Во всех группах леченных животных экскреция натрия повышается по сравнению с группой модельной патологии (четкая тенденция), однако у крыс, леченных настойкой *per se*, дистальный транспорт натрия поддерживается на более высоком уровне, чем на фоне метформина, при уменьшенном проксимальном транспорте этого катиона. Экскреция калия снижается у всех групп животных с АД, коэффициент Na^+/K^+ мочи возрастает, что указывает на отсутствие активации альдостеронового контроля транспорта электролитов. Комбинация метформина с настойкой сныти оказывает антипротеинурический эффект по показателю количества экскретированного белка в пересчете на 1 мл клубочкового фильтрата (при отсутствии достоверных различий уровня СКФ с интактным контролем). Исследуемые препараты не оказывают неблагоприятного влияния на обмен мочевины и уменьшают экскрецию мочевой кислоты, что на фоне неизменной урикемии указывает на ограничение ее синтеза. В почках животных с АД повышается содержание ТБК-реактантов, его уменьшение достигается на фоне метформина и его комбинации с настойкой.

Ключевые слова: сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria* L.), аллоксан, метаболизм глюкозы, антигипергликемические средства, метформин

O. V. Tovchiga, S. Yu. Shtrygol', Yu. B. Laryanovska

The influence of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) tincture and metformin on the structure and functions of the kidney in alloxan-induced diabetic rats

The renal effects of goutweed tincture *Aegopodium podagraria* L. (1 ml/kg intragastrically) and its combination with metformin (100 mg/kg intraperitoneally) were studied using the treatment regimen of drugs administration in the early stages of alloxan-induced diabetes (AD) (days 3–4) in rats.

It has been shown that the tincture counteracts to the changes in the capillaries of the glomeruli as well as in the tubules, which are present in the untreated animals with AD. Metformin prevents the development of the changes in the capillaries of the glomeruli, but does not normalize the histological structure of the tubules in this group (as well as in rats receiving metformin combined with the tincture), hyaline cylinders are seen in the certain tubules, that is associated with polymerisation of the Tamm-Horsfall protein against a background of higher osmotic concentration of the primary urine with the other signs of nephrotoxicity being absent. The tincture *per se* counteracts to the formation of hyaline cylinders against a background of elevated diuresis due to reduced water reabsorption. In all groups of treated animals, a clear tendency towards the increase in sodium excretion when compared with the untreated group, however, in rats treated with the tincture *per se*, the distal sodium transport is maintained at a higher level than in the animals receiving metformin, while the proximal transport of this cation is reduced. Potassium excretion is reduced in all groups of animals with AD, urine Na^+/K^+ ratio is increased, indicating the absence of activation of aldosterone control of electrolyte transport. The combination of metformin with goutweed tincture exerts an antiproteinuric effect by the criterion of the amount of excreted protein adjusted to glomerular filtrate volume (under the condition of the absence of significant differences in the level of GFR with the intact control). The studied drugs do not show a negative influence on urea metabolism and reduce uric acid excretion, which, with uricemia being unchanged, indicates a limitation of its synthesis. In the kidney of the animals with AD, the content of TBA-reactive substances is increased, its reduction is seen against the background of metformin and its combination with tincture.

Key words: goutweed (*Aegopodium podagraria* L.), alloxan, glucose metabolism, antihyperglycaemic preparations, metformin

Надійшла: 6 листопада 2017 р.

Контактна особа: Товчига О. В., Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 35 81.

О. І. Яцина¹, О. В. Паршиков², Ф. І. Костєв³, А. І. Соловійов²

Кверцетин нормалізує скоротливу активність гіперактивного сечового міхура щурів

¹Державна установа «Інститут урології

Національної академії медичних наук України», м. Київ

²Державна установа «Інститут фармакології та токсикології

Національної академії медичних наук України», м. Київ

³Одеський національний медичний університет

Міністерства охорони здоров'я України, м. Одеса

Ключові слова: гіперактивний сечовий міхур, фармакотерапія, кверцетин, скоротлива активність детрузора

Розповсюдженням хронічним захворюванням органів сечовивідної системи є синдром гіперактивного сечового міхура (ГСМ), перебіг якого може ускладнюватися під впливом багатьох чинників і призводити до значного погіршення якості життя хворих. Сьогодні існують дві концепції патогенезу ГСМ: нейрогенна та міогенна, але ключові зв'язки та взаємодія окремих патофізіологічних механізмів остаточно не з'ясовані. У більшості випадків імперативне сечовипускання спостерігається в осіб середнього та похилого віку, а лікувальні заходи спрямовані на зменшення частоти сечовипускання, епізодів нетримання сечі та ноктурії [1, 2].

Доведено ефективність препаратів з різних фармакологічних груп: антагоністів М-холінорецепторів, агоністів β -адренорецепторів, аналогів вазопресину, інгібіторів синтезу простаноїдів, андрогенів та ін., які, у першу чергу, призначають для полегшення симптомів ГСМ [3–5]. Проте питання безпечного застосування таких засобів залишається не вирішеним, зокрема, проведення антимускаринової терапії на додаток до всіх інших ускладнень може сприяти когнітивним розладам всупереч протоколам лікування хворих з віковими нейродегенеративними захворюваннями [6].

Останнім часом впровадження нових підходів до лікування ГСМ відбувається з залученням природних флавоноїдів, а саме кверцетину. Порушення централь-

них механізмів регуляції та периферичного контролю (аферентної/еферентної іннервації), надвисокі збудливість і реактивність гладеньких м'язів та інтерстиціальних клітин-пейсмейкерів, автономна модуляція скоротливої діяльності за участю уротелію та численних медіаторів, які накопичуються в тканинах сечового міхура – таким видається перелік можливих шляхів впливу кверцетину на стан функціональної активності ГСМ [7–14]. Разом з тим, послідовність і характерні зміни скоротливої діяльності сечового міхура внаслідок складного механізму дії кверцетину досі не визначені. *Мета дослідження* – визначити особливості нейрогенних і міогенних реакцій фрагментів детрузора сечового міхура, ізольованих у щурів з експериментальною моделлю ГСМ, а також після курсового введення кверцетину.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 38 дорослих щурах-самках популяції Вістар масою 200–250 г, розподілених на 4 групи: 1 – контрольні тварини (К); 2 – тварини з ГСМ (ГСМ), яким вводили препарат Хомвіотензин (Маурман-Арцнайміттель КГ, Німеччина), щоденно внутрішньоочеревинно протягом 2 тижнів у дозі 0,45 мг/кг маси тіла в розрахунку на діючу речовину резерпін; 3 – тварини з ГСМ, яким внутрішньошлунково вводили препарат Квертин (Борщатівський ХФЗ, Україна) протягом 2 тижнів, щоденно в дозі 10 мг/кг у розрахунку на діючу речовину кверцетин (Кв 1); 4 – тварини з ГСМ, яким вводили препарат Квертин протягом 2 тижнів, 3 рази на 1 тиждень у дозі 10 мг/кг у розрахунку на кверцетин (Кв 2). Евтаназію щурів

проводили під тіопенталовим наркозом. Усі процедури з тваринами виконували відповідно до правил поводження та захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях [15, 16].

Сечовий міхур (СМ) видаляли в щурів через 48 год після введення препаратів і зберігали в охолодженому розчині Кребса такого складу (ммоль/л): 132 NaCl, 4,7 KCl, 1,4 NaH₂PO₄, 1,0 MgCl₂, 1,8 CaCl₂, 25 NaHCO₃, 6,5 глюкози, рН 7,4 підтримували за допомогою газової суміші 5 % CO₂/95 % O₂. Ізольований СМ очищували від залишків жирової та сполучної тканини, розрізали на фрагменти (поздовжні смужки до 3 мм завтовшки). Смужки розміщували в камері з розчином Кребса (35 °C) і розтягували з попереднім навантаженням до 1 г (10 mN). Скоротливу активність смужок досліджували в ізометричному режимі за допомогою тензодатчиків (FTK-0.1, С.К.К., Україна), адаптера LabTrax 4-CDA (WPI, США), програмного забезпечення DataTrax 2 (WPI, США).

Вимірювання проводили після стабілізації скоротливої діяльності смужок протягом 60 хв, а максимальну відповідь під дією 120 ммоль/л KCl у розчині Кребса вважали за 100 % у подальших розрахунках амплітуди скорочень (% KCl) окремих смужок за стимуляції. Скоротливі реакції детрузора щурів досліджували відповідно до двох експериментальних протоколів. По-перше, визначали рівень нейрогенних реакцій у смужок під час трансмуральної стимуляції електричним полем з постійною частотою 20 Гц (СЕР-1) за допомогою електростимулятора ЕСЛ-1 (Україна). Тривалість СЕР-1 складала 10 с з інтервалом 2 хв (0,25 мс, 40 В). Частотно-залежний ефект стимуляції досліджували в діапазоні частот 1–50 Гц (СЕР-2), тривалістю 10 с за 2 хв (0,4 мс, 60 В). Відповіді смужок до (А) та після (В) додавання блокаторів М-холінорецепторів (атропіну), Р2Х-пуринорецепторів (ab-MeATФ) і синтезу простаноїдів (індометацину) враховували (В/А · 100, %) у разі визначення їхнього впливу на скорочення [17, 18]. По-друге, досліджували скоротливі

реакції смужок під дією АХ і АТФ (кумулятивний доза-ефект).

У роботі використовували солі кваліфікації х. ч. і ч. д. а. вітчизняного виробництва. Ацетилхолін (АХ), карбахолін (КХ), атропін (АТ), АТФ, αβ-метилена-АТФ (ab-MeATФ) виробництва Sigma (США). Достовірність результатів оцінювали за t-критерієм Стьюдента, розбіжності вважали значущими за умови $p \leq 0,05$. Статистичну обробку й графічне оформлення результатів дослідження проводили за допомогою OriginPro 8.1 (OriginLab Co, США) і Exel (Microsoft, США).

Результати та їх обговорення. Як відомо, зниження рівня норадреналіну призводить до послаблення важливої гальмівної ланки в рефлекторній нейрональній регуляції тонічного напруження та скоротливої діяльності СМ [19]. Цей фізіологічний механізм став підґрунтям для створення експериментальної моделі ГСМ у щурів шляхом тривалого введення резерпіну, що пригнічує синтез і депонування катехоламінів, тим самим провокує підвищення базального тонусу, збудливості та скоротливої активності детрузора [20].

Попередні дані щодо максимальної амплітуди скорочення ($E_{\max}$, mN) у відповідь на 120 ммоль/л KCl свідчили про відсутність відмінностей у реакціях смужок контрольних щурів ($20,6 \pm 1,5$ mN), тварин з ГСМ ($21,6 \pm 1,9$ mN) і тварин з ГСМ, які отримували кверцетин у різний спосіб дозування Кв 1 ($19,2 \pm 2,7$ mN) та Кв 2 ($20,1 \pm 2,4$ mN). Наступну стимуляцію скорочення детрузора проводили за допомогою КХ, який є аналогом АХ, стійким до ферментативного гідролізу, та викликає скорочення СМ переважно шляхом активації М3-холінорецепторів [21]. Проведені досліді не виявили різниці у реакціях ($E_{\max}$, % KCl) смужок контролю ($191,5 \pm 33,0$ %), смужок Кв 1 ($192,8 \pm 15,6$ %) і Кв 2 ($171,5 \pm 24,7$ %), проте амплітуда скорочень останніх була значно нижчою порівняно з групою ГСМ ($219,7 \pm 12,9$ %).

Дослідження участі холінергічних механізмів у регуляції нейрогенних реакцій детрузора щурів з різних експериментальних груп показали, що за

умови регулярної стимуляції з частотою 20 Гц (СЕП-1) максимальна амплітуда скорочень ($E_{\max}$, % KCl) у смужок з групи ГСМ ($231,5 \pm 10,0$ %) значно перевищувала показники контролю ($187,1 \pm 14,1$ %) і смужок з групи Кв 1 ($198,1 \pm 10,9$ %), а амплітуда скорочення смужок з групи Кв 2 ($139,2 \pm 9,2$ %) була значно нижчою за ці показники, як представлено на рисунку 1. Додавання АТ (10^{-6} моль/л) призводило до зменшення амплітуди СЕП-скорочення детрузора щурів за рахунок блокування холінергічного компоненту [3]. Проте за рівнем АТ-резистентних реакцій (%) смужки контролю ($48,0 \pm 4,1$ %), смужки Кв 1 ($48,2 \pm 3,5$ %) і Кв 2 ($36,3 \pm 3,2$ %) значно поступалися смужкам з групи ГСМ ($63,5 \pm 4,8$ %).

Зважаючи на здатність АХ пригнічувати активність різних сигнальних шляхів (пуринергічного, пептидергічного тощо), що беруть участь у нейрогенних реакціях, досліджували зміни амплітуди СЕП-скорочень детрузора після додаткової активації М-холінорецепторів [18]. У цьому випадку попередня стимуляція КХ протягом 5–8 хв призводила до подальшого зменшення амплітуди АТ-резистентних реакцій у смужок з групи ГСМ ($19,3 \pm 4,2$ %), Кв 1 ($14,3 \pm 3,1$ %) і Кв 2 ($22,6 \pm 3,6$ %) до рівня контролю ($18,0 \pm 3,9$ %). Такі результати свідчать про вагомий внесок інших чинників, окрім головного холінергічного, в активацію нейрогенних реакцій детрузора в щурів з ГСМ, а також про значні зміни в регуляції саме холінергічного компоненту в тварин з ГСМ після введення кверцетину.

Дослідження залежності амплітуди скорочень детрузора від частоти СЕП окремо та в присутності відповідних блокаторів дозволяло оцінити внесок окремих медіаторних компонентів у розвиток нейрогенних відповідей [17]. Згідно з даними частотно-залежного ефекту стимуляції скоротливої активності (СЕП-2, 1–50 Гц), наведеними на рисунку 2, максимальна амплітуда реакції ($E_{\max}$, % KCl) у смужок з групи ГСМ ($245,1 \pm 11,9$ %) значно перевищувала показники контролю ($176,2 \pm 10,4$ %), а також смужок з групи Кв 1 ($187,3 \pm 7,2$ %) і Кв 2 ($186,4 \pm 6,1$ %).

Додавання АТ призводило до зниження амплітуди СЕП-скорочень ($E_{\max + \text{АТ}}$, % KCl) смужок контролю ($70,1 \pm 2,1$ %), смужок з групи Кв 1 ($97,5 \pm 2,5$ %) і Кв 2 ($85,4 \pm 4,8$ %), більш виразно порівняно з групою ГСМ ($116,2 \pm 9,1$ %).

Наступним кроком блокували пуринергічний компонент регуляції СЕП-скорочення, що відбувалося за рахунок зворотної десенситизації Р2Х-пуринорецепторів після додавання $\alpha\beta$ -МеАТФ (10^{-5} моль/л) [22]. Максимальна амплітуда реакції ($E_{\max + \alpha\beta\text{-МеАТФ}}$, % KCl), яку спостерігали в присутності обох блокаторів у смужок контролю ($30,6 \pm 3,4$ %) і Кв 2 ($24,5 \pm 5,4$ %), була значно нижчою, порівняно з групами ГСМ ($64,2 \pm 3,5$ %) і Кв 1 ($70,9 \pm 5,6$ %). Додавання індометацину (10^{-5} моль/л) викликало подальше зниження амплітуди СЕП-скорочення (дані не представлені), але зміни в реакції смужок контролю і Кв 2 були відносно меншими, ніж у смужок з групи ГСМ і Кв 1. Вочевидь, формування гіперактивної відповіді детрузора в щурів з ГСМ є наслідком одночасної

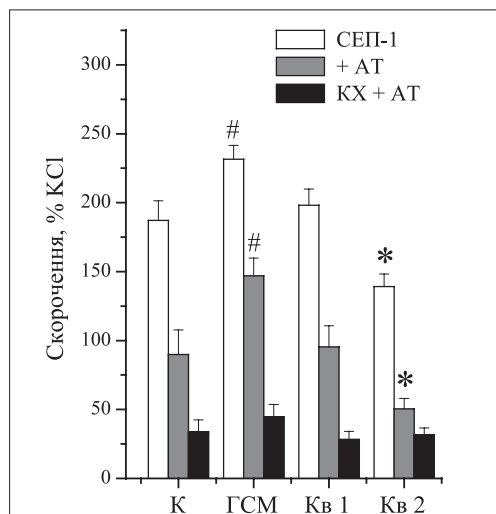


Рис. 1. Скоротливі реакції детрузора щурів у разі стимуляції електричним полем (СЕП-1, 20 Гц) до та після додавання атропіну (+ АТ, 10^{-6} моль/л), під дією карбахоліну (КХ, 10^{-5} моль/л) і після додавання атропіну (КХ + АТ). Смужки сечового міхура, ізолювані в контрольних тварин (К); тварин з гіперактивним сечовим міхуром (ГСМ); тварин з гіперактивним сечовим міхуром, які отримували кверцетин (Кв 1) і (Кв 2)

Примітка. * $P \leq 0,05$ порівняно з контролем, групами Кв 1 і Кв 2; * $P \leq 0,05$ порівняно з контролем і Кв 1; $n = 7-12$).

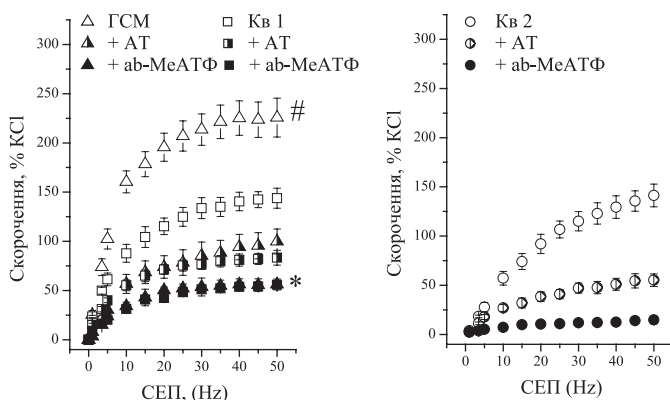


Рис. 2. Частотно-залежний ефект стимуляції електричним полем скоротливих реакцій детрузора щурів (СЕП-2, 1-50 Гц) до і після додавання атропіну (+ АТ, 10^{-6} моль/л), після додавання ab-MeATF (+ab-MeATF, 10^{-5} моль/л). Смужки сечового міхура, ізолювані в тварин з гіперактивним сечовим міхуром (ГСМ); тварин з гіперактивним сечовим міхуром, які отримували кверцетин (Кв 1) і (Кв 2)

Примітка. $^{\#}P \leq 0,05$ порівняно з групами контролю, Кв 1 і Кв 2; $^{*}P \leq 0,05$ порівняно з контролем і Кв 2, $n = 6-9$.

активації принаймні трьох сигнальних шляхів (холінергічного, пуринергічного, простаноїдів). Проте в тварин з ГСМ, які отримували кверцетин, спостерігалось відновлення нормальної амплітуди нейрогенних реакцій детрузора. У регуляції СЕП-скорочення в смужок Кв 1 зберігався значний вплив простаноїдів на тлі зниження холінергічного компоненту, а реакції смужок Кв 2 не відрізнялися від показників контролю.

Реакції гладеньких м'язів детрузора щурів на АХ і АТФ оцінювали на під-

ставі розрахованих показників кумулятивного доза-ефекту (рис. 3).

Встановлено, що за максимальною амплітудою ($E_{\max}$, % КСІ) скорочення під дією АХ у смужок Кв 1 ($215,9 \pm 18,6$ %) і Кв 2 ($210,4 \pm 11,6$ %) переважали відповіді смужок контролю ($151,9 \pm 19,0$ %) і ГСМ ($150,5 \pm 5,9$ %). Також спостерігали значне зростання чутливості до АХ (EC_{50}) у смужок Кв 2 ($1,1 \pm 0,4$) $\cdot 10^{-5}$ моль/л, порівняно з контролем ($1,1 \pm 0,7$) $\cdot 10^{-4}$ моль/л, смужками з груп ГСМ ($5,4 \pm 1,2$) $\cdot 10^{-5}$ моль/л і Кв 1 ($7,3 \pm 1,6$) $\cdot 10^{-5}$ моль/л).

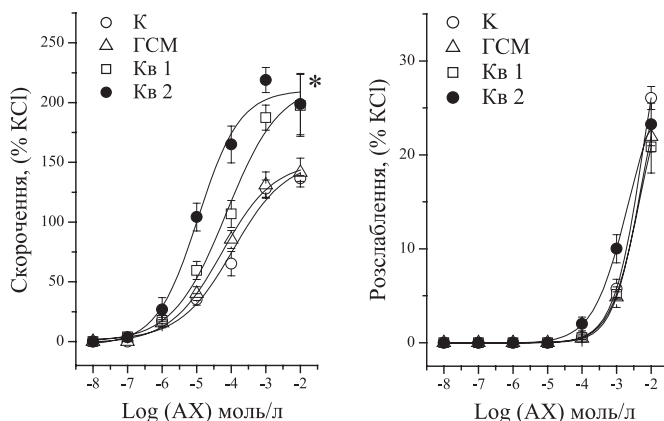


Рис. 3. Дозо-залежний ефект АХ і АТФ (10^{-8} – 10^{-2} моль/л) на скоротливу активність детрузора щурів. Смужки сечового міхура, ізолювані у контрольних тварин (К); тварин з гіперактивним сечовим міхуром (ГСМ); тварин з гіперактивним сечовим міхуром, які отримували кверцетин (Кв 1) і (Кв 2)

Примітка. $^{\#}P \leq 0,05$ порівняно з контролем і групою тварин з гіперактивним сечовим міхуром; $n = 6-8$.

Дослідження реакції смужок на АТФ вказують на однаково низький рівень амплітуди та чутливості гладеньких м'язів детрузора щурів з усіх експериментальних груп.

Відмінності в реакціях на АХ детрузора щурів з ГСМ після курсового введення кверцетину, у першу чергу, можуть пояснюватися підвищенням біодоступності медіатора. Таке припущення узгоджується з даними стосовно здатності кверцетину як інгібітора ацетилхолінестерази перешкоджати деградації медіатора в тканинах СМ, що забезпечує підвищення амплітуди та тривалості скорочення гладеньких м'язів у відповідь на АХ [23]. Фізіологічна дія ендogenous АХ, який вивільняється з нервових закінчень й уротелію, не обмежується впливом на скоротливу діяльність гладеньких м'язів за участю M_2/M_3 -холінорецепторів, або активність інших медіаторів, які протилежним чином регулюють фазні скорочення СМ. Провідним механізмом негативного зворотного зв'язку є гальмування секреції АХ за участю пресинаптичних M_2/M_4 -холінорецепторів, що відповідно впливає на рівень АХ-залежних нейрогенних реакцій детрузора [3, 21]. Крім того, збудливість детрузора може нормалізуватися завдяки пригніченій

активності клітин-пейсмейкерів, а також внаслідок антиоксидантної, протизапальної, естрогено- й енерготропної дії кверцетину [8, 11–14, 24]. Проте визначення пріоритетів у взаємодії сигнальних шляхів, які спроможні забезпечити відновлення контролю за функціональним станом ГСМ, потребує подальших досліджень.

Таким чином, враховуючи широкий спектр біологічної активності флавоноїдів та існуючі застереження щодо традиційної терапії, застосування лікарських засобів на основі кверцетину в комплексному лікуванні ГСМ видається перспективною стратегією.

Висновки

1. Введення препарату кверцетину (Квертину) щурам з експериментальним ГСМ призводило до нормалізації амплітуди нейрогенних скоротливих реакцій детрузора.
2. Лікувальний ефект кверцетину проявлявся переважно за рахунок зменшення внеску холінергічного компонента в регуляцію нейрогенних скорочень на тлі підвищення чутливості гладеньких м'язів до АХ, а також залежав від режиму дозування препарату.

1. Andersson K. E. Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence / K. E. Andersson, A. J. Wein // *Pharmacol Rev.* – 2004. – V. 56. – P. 581–631.
2. Hashim H. Overactive bladder: an update / H. Hashim, P. Abrams // *Curr Opin Urol.* – 2007. – V. 17 (4). – P. 231–236.
3. Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder / P. Abrams, K. E. Andersson, J. J. Buccafusco [et al.] // *British Journal of Pharmacology.* – 2006. – V. 148. – P. 565–578.
4. The Forefront for Novel Therapeutic Agents Based on the Pathophysiology of Lower Urinary Tract Dysfunction: Pathophysiology and Pharmacotherapy of Overactive Bladder / M. Yoshida, K. Masunaga, T. Nagata [et al.] // *J. Pharmacol Sci.* – 2010. – V. 112. – P. 128–134.
5. Dobrek L. The role of prostanoids in the urinary bladder function and a potential use of prostanoid-targeting pharmacological agents in bladder overactivity treatment / L. Dobrek, P. J. Thor // *Acta Pol Pharm – Drug Res.* – 2015. – V. 72 (1). – P. 13–19.
6. Dual Use of Bladder Anticholinergics and Cholinesterase Inhibitors: Long-Term Functional and Cognitive Outcomes / K. M. Sink, J. Thomas, H. Xu [et al.] // *J. Am Geriatr Soc.* – 2008. – V. 56. – P. 847–853.
7. Beneficial effects of quercetin on rat urinary bladder after spinal cord injury / O. Cevik, M. Erşahin, TE Sener [et al.] // *J Surg Res.* – 2013. – V. 183 (2). – P. 695–703.
8. Antioxidant Agent Quercetin Prevents Impairment of Bladder Tissue Contractility and Apoptosis in a Rat Model of Ischemia/Reperfusion Injury / I. Tinay, T. E. Sener, O. Cevik [et al.] // *Low Urin Tract Symptoms.* – 2017. – V. 9 (2). – P. 117–123.
9. A prospective study to evaluate the efficacy of Cistiquer in improving lower urinary tract symptoms in females with urethral syndrome / G. Palleschi, A. Carbone, A. Ripoli [et al.] // *Minerva Urol Nefrol.* – 2014. – V. 66 (4). – P. 225–232.
10. Shoskes D.A. Quercetin for chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome / D. A. Shoskes, J. C. Nickel // *Urol Clin North Am.* – 2011. – V. 38 (3). – P. 279–284.

11. Flavonoid Apigenin Is an Inhibitor of the NAD+ase CD38 Implications for Cellular NAD+ Metabolism, Protein Acetylation, and Treatment of Metabolic Syndrome / C. Escande, V. Nin, N. L. Price [et al.] // *Diabetes*. – 2013. – V. 62. – P. 1084–1093.
12. Савчук Р. В. Біофлаваноїд кверцетин у лікуванні хворих на гіперактивний сечовий міхур / Р. В. Савчук // *Одеський медичний журнал*. – 2009. – № 3 (113). – С. 46–49.
13. Quercetin Inhibits Pacemaker Potentials via Nitric Oxide/cGMP-Dependent Activation and TRPM7/ANO1 Channels in Cultured Interstitial Cells of Cajal from Mouse Small Intestine / H. Gim, J. H. Nam, S. Lee [et al.] // *Cell Physiol Biochem*. – 2015. – V. 35. – P. 2422–2436.
14. Sunita P. Phytoestrogens in postmenopausal indications: A theoretical perspective / P. Sunita, S. P. Pattanayak // *Pharmacogn Rev*. – 2011. – V. 5 (9). – P. 41–47.
15. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – С. 990.
16. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 р., Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи), (електронний ресурс).
17. Triguero D. Changes in nerve-mediated contractility of the lower urinary tract in a mouse model of premature ageing / D. Triguero, A. Lafuente-Sanchis, A. Garsia-Pascual // *Brit J. Pharmacol*. – 2014. – V. 171. – P. 1687–1705.
18. Plasticity of non-adrenergic non-cholinergic bladder contractions in rats after chronic spinal cord injury / H. H. Lai, A. Munoz, C. P. Smith [et al.] // *Brain Res Bull*. – 2011. – V. 86 (1–2). – P. 91–96.
19. Andersson K. E. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology / K. E. Andersson, A. Arner // *Physiol Rev*. – 2004. – V. 84. – P. 935–986.
20. Костев Ф. І. Енерготропний ефект препарату кверцетин на гіперактивний сечовий міхур в експерименті / Ф. І. Костев, Р. В. Савчук // *Одеський медичний журнал*. – 2008. – № 5. – С. 33–35.
21. Reactivity of Urinary Bladder Smooth Muscle in Guinea Pigs to Acetylcholine and Carbachol: Participation of Acetylcholinesterase / J. Mokry, M. Jakubesova, J. Švihra, [et al.] // *Physiol. Res*. – 2005. – V. 54. – P. 453–458.
22. Burnstock G. Purinergic signaling in the urinary tract in health and disease / G. Burnstock // *Purinergic Signalling*. – 2014. – V. 10. – P. 103–155.
23. Uriarte-Pueyo I. Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors / I. Uriarte-Pueyo, M.I. Calvo // *Curr Med Chem*. – 2011. – V. 18 (34). – P. 5289–5302.
24. Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens with Estrogen Receptor- β / G. M. Kuiper, J. G. Lemmen, B. Carlsson [et al.] // *Endocrinology*. – 1998. – V. 139. – P. 4252–4263.

О. І. Яцина, О. В. Паршиков, Ф. І. Костев, А. І. Соловйов

Кверцетин нормалізує скоротливу активність гіперактивного сечового міхура щурів

Досліджували вплив кверцетину на регуляцію скоротливої діяльності гіперактивного сечового міхура (ГСМ) у самок щурів. Експериментальну модель ГСМ отримували шляхом введення тваринам резерпіну (Хомвіотензину). Кверцетин (Квертин) вводили тваринам з ГСМ по 10 мг/кг протягом 2 тижнів (Кв 1 – введення кожного дня, Кв 2 – введення через 2 дні). Визначали амплітуди нейрогенних реакцій (стимульованих електричним полем) і скоротливих відповідей на ацетилхолін і АТФ у смужок сечового міхура, ізольованих у тварин після введення препаратів.

Встановлено, що рівень нейрогенних скорочень детрузора тварин з ГСМ значно перевищував показники контролю й тварин, які отримували кверцетин. Нормалізація скоротливої активності детрузора під дією кверцетину відбувалася за рахунок зменшення внеску холінергічного компоненту в регуляцію нейрогенних реакцій. Разом з тим, спостерігали значне підвищення амплітуди скорочення (Кв 1, Кв 2) і чутливості (Кв 2) гладеньких м'язів до ацетилхоліну. Ефективність застосування кверцетину в комбінації з іншими препаратами потребує подальшого вивчення.

Ключові слова: гіперактивний сечовий міхур, фармакотерапія, кверцетин, скоротлива активність детрузора

А. И. Яцина, А. В. Паршиков, Ф. И. Костев, А. И. Соловьев

Кверцетин нормализует сократительную активность гиперактивного мочевого пузыря крыс

Исследовали влияние кверцетина на регуляцию сократительной деятельности гиперактивного мочевого пузыря (ГМП) у самок крыс. Экспериментальную модель ГМП у крыс получали путем введения резерпина (Хомвиотензина). Кверцетин (Квертин) вводили животным с ГМП по 10 мг/кг в течение 2 недель (Кв 1 – введение каждый день, Кв 2 – введение через 2 дня). Определяли амплитуды нейрогенных реакций (стимулированных электрическим полем) и сократительных ответов на ацетилхолин и АТФ у полосок мочевого пузыря, изолированных у животных после введения препаратов.

Установлено, что уровень нейрогенных сокращений детрузора животных с ГМП значительно превышал показатели контроля и животных, получавших кверцетин. Нормализация сократительной

активности детрузора под действием кверцетина происходила за счет уменьшения вклада холинэргического компонента в регуляцию нейрогенных реакций. Вместе с этим, наблюдали значительное повышение амплитуды сокращений (Кв 1, Кв 2) и чувствительности (Кв 2) гладких мышц к ацетилхолину. Эффективность использования кверцетина в комбинации с другими препаратами требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: гиперактивный мочевой пузырь, фармакотерапия, кверцетин, сократительная активность детрузора

O. I. Iatsyna, O. V. Parshykov, F. I. Kostev, A. I. Soloviev

Quercetin normalizes the contractile activity of the rat overactive bladder

The effect of quercetin on the regulation of the contractile activity of the overactive bladder (OB) in female rats was studied. An experimental model of OB in rats was obtained by the administration of reserpine (Homvotensin). Quercetin (Quertin) was administrated to animals with OB at 10 mg/kg for 2 weeks (Q1 – administration every day, Q2 – administration after 2 days). The amplitudes of neurogenic reactions (stimulated by the electric field) and contractile responses to acetylcholine and ATP in the bladder strips isolated from animals after administration of the medicines were determined.

It was found that the level of detrusor neurogenic contractions from animals with OB was significantly higher than the controls and animals receiving quercetin. Normalization of detrusor contractile activity under the action of quercetin was due to a decrease in the contribution of the cholinergic component in the regulation of neurogenic reactions. Simultaneously a significant increase in the contractions amplitude of (Q1, Q2) and sensitivity (Q2) of smooth muscles to acetylcholine were observed. The efficacy of using quercetin in combination with other medicines requires further study.

Key words: overactive bladder, pharmacotherapy, quercetin, contractile activity of detrusor

Надійшла: 13 грудня 2017 р.

Контактна особа: Яцина Олександр Іванович, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, лабораторія нейроурології, ДУ «Інститут урології НАМН України», буд. 9А вул. Володимира Винниченка, м. Київ, 04053. Тел.: +38 0 67 698 55 11.
Електронна пошта: yatsyna@gmail.com

О. П. Пахольчук

Оцінка патогенетично обґрунтованого лікування шкірних проявів харчової гіперчутливості в дітей

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: діти, харчова гіперчутливість, емолієнти, епідермальна дисфункція, мукозальна дисфункція, ентеросептики

Актуальність подальшого вдосконалення лікування симптомів харчової гіперчутливості (ХГ) на шкірі в дітей продиктована зростанням захворюваності та соціальною значущістю даної проблеми [1]. Один і той самий харчовий продукт через багатокопонентність складу може бути причиною ХГ, яка має неімунні шляхи розвитку та може бути пов'язана з непереносимістю вуглеводів, підвищеною чутливістю до біогенних амінів або хімічних домішок та інше. На практиці одні й ті самі рекомендації й стратегії діагностики та лікування по-різному ефективні та інформативні в дітей з клінічними проявами ХГ [1]. Пошук підходів до корекції ключових ланок патогенезу за симптомів ХГ у дітей залишається перспективним напрямом досліджень. Серед можливих нових терапевтичних цілей розглядають вплив на стан шкірного та кишкового бар'єрів [2–5]. Дані щодо ролі бактеріальної флори кишківника різняться, єдиної точки зору на цю проблему не існує, а отже немає універсальних рекомендацій щодо показань та методів корекції дисбіотичних порушень у дітей з симптомами ХГ [1]. Попередні результати досліджень показали, що корекція епідермальної дисфункції дозволяє попередити розвиток atopічного дерматиту в дітей [6, 7]. Також переконливі дані були отримані щодо можливості впливу на системні імунні реакції через корекцію мукозальної дисфункції [8].

Мета дослідження – вивчити клінічну ефективність патогенетично обґрунтованої схеми терапії шкірних проявів ХГ у дітей.

Матеріали та методи. У 2011–2016 роках у дослідження після ретельного аналізу відібрано 1780 амбулаторних карт та загальноклінічного обстеження дітей віком від 1 місяця до 18 років, які звернулися за медичною допомогою до КУ «Запорізька міська дитяча багатопрофільна лікарня № 5» та Університетської клініки Запорізького державного медичного університету з приводу клінічних симптомів алергії на шкірі, пов'язаних з вживанням харчових продуктів. Вибірка дітей була випадковою, поточною. Подальше обстеження пройшли 760 пацієнтів, з яких після ретельного аналізу критеріїв включення та виключення подальшу участь у дослідженні продовжили 148 пацієнтів. Випадковим методом вони були розподілені на 2 групи лікування: 1 – основна, 2 – порівняння. 1 група дітей ($n = 88$) отримувала патогенетично обґрунтовану терапію, націлену на корекцію шкірного та кишкового бар'єрів впродовж 10 днів. Призначено гіпоалергенну ротаційну дієту та раннє повернення в раціон причинних продуктів. З метою корекції епітеліальної дисфункції діти отримували зовнішньо емолієнти з нанесенням 6–10 раз на добу тонким шаром на уражені ділянки та на все тіло 1–2 рази на 1 день, ванни з простою водою комфортної температури тривалістю 10–15 хв. У разі виявлення підвищеної проникності кишківника та/або синдрому надмірного бактеріального росту дітям призначалися бактеріальні препарати, що містять спори полірезистентного штаму бактерій *Bacillus clausii* й не мають у складі лактози, тривалість курсу – 10 діб. Антигістамінні препарати 2–3 покоління призначалися курсом від 3 до 5 днів лише у випадку виявлення уртикарних елементів, орального алергічного синдрому. У разі виявлення бактеріально-

го чи грибкового ускладнення на шкірі призначали протибактеріальні (гентаміцин 0,1 % (у формі сульфату) та/або протигрибкові (клотримазол 1 %) креми для щоденного нанесення 2 рази на 1 день впродовж 10 днів.

Після встановлення клінічної ремісії дітям впроваджували пероральну алергенспецифічну імунотерапію відповідно до результатів проведених шкірних і провокаційних оральних проб. Для пероральної імунотерапії використовували звичайні продукти харчування. Початкове дозування вибирали відповідно до результатів проведення провокаційних проб. Початкові введення здійснювали 1 раз на 5 днів. За умов досягнення кількості продукту, рівному дитячій порції на разовий прийом (наприклад 1 яйце чи 100 мл молока), частота прийому становила двічі на один тиждень. Після цього завершували нарощування дози, й дітей переводили на етап підтримуючого лікування.

2 група дітей ($n = 60$) отримувала традиційне базове лікування, яке включало елімінаційну дієту, 1–2 разове нанесення емолієнтів зовнішньо, планове призначення антигістамінних препаратів 2–3 покоління та кремів, що містять нефторовані глюкокортикостероїдні препарати (мометазону фураат 1 мг) місцево на уражені ділянки впродовж перших 5 днів, кремнієві сорбенти, пробіотики (*Lactobacillus reuteri*) внутрішньо, сольові ванни курсом № 5. Базову терапію в цієї групи пацієнтів проводили впродовж 10–14 днів залежно від тяжкості клінічних проявів. Після стабілізації та досягнення ремісії з метою профілактики загострень давали рекомендації виключити з раціону причинні продукти харчування.

Визначення клінічної ефективності терапії проводили за даними катамnestичного дослідження з використанням спеціально складених форм. Оцінку клінічних симптомів та анкетування проводили протягом усього лікування й один раз на місяць на етапі формування оральної толерантності. Для кількісного вимірювання була використана бальна шкала SCORAD та TIS.

Стан епідермального бар'єра визначали за рівнем відносної вологості

шкіри, яку вимірювали за допомогою портативного пристрою для визначення вологості шкіри (Queentone, Франція). Нормальним рівень вологості вважали за показників від 34 до 56 %. Позитивний ефект терапії оцінювали за підвищенням вологості шкіри не менше ніж на 50 % від вихідного рівня або досягненням нормального рівня (34 % і вище), що більше. Ефект – результативну ознаку враховували в альтернативній формі (1 – є ефект, 0 – немає). Стан мукозального бар'єра визначали за допомогою водневого дихального тесту (аналізатор Gastro+ Gastrolyzer® (Bedfont, Німеччина) з глюкозою за методикою, наданою виробником. Сенсибілізацію до харчових продуктів підтверджували за допомогою шкірного прик-тесту, визначення рівнів загального та специфічних IgE, оральної провокаційної проби. Відкриту оральну провокацію з харчовими продуктами проводили дітям до 1 року, пацієнтам старше 12 місяців проводили подвійну сліпу плацебоконтрольовану провокаційну пробу відповідно до рекомендацій EAACI.

Упродовж проспективного спостереження враховували зміни характеру перебігу захворювання, а саме: частоту загострень, їхню тяжкість. З метою подальшої математичної обробки даних кожен критерій переводився в бальну оцінку: 0 – без змін, 1 – незначне зменшення тяжкості та кількості загострень, 2 – значне полегшення перебігу (легкі загострення, що спостерігаються рідко та не потребують лікування), 3 – повна ремісія. За вихідний рівень для порівняння брали результати оцінювання характеру перебігу симптомів ХГ на момент першого візиту.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета програми «Statistica 6.0» (StatSoft Inc., США, №AXXR712D833214FAN5). Нормальність розподілу параметрів визначали за тестом Шапіро-Уїлка. За ненормального розподілу ознаки описову статистику подавали у вигляді медіани та міжквартильного розмаху – Me (Q25–Q75). Якісні показники надано у вигляді абсолютної та відносної величин. Порівняння проводили за тестом

Манна-Уїтні. Для з'ясування характеру та сили зв'язку використовували рангову кореляцію за Спірманом, для груп з категоріальними даними – коефіцієнт гамма. Гіпотеза відносно зв'язку між ознаками ефективності методів лікування оцінена за допомогою кластерного аналізу. Значущими вважали відмінності в разі $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що відібрані групи дітей були рівномірні, не мали достовірної різниці ані за віковим і статевим складом, ані за показниками, що характеризують особливості перебігу симптомів ХГ на шкірі ($p > 0,05$). Переважна кількість дітей в обох групах дослідження була віком до 3 років (33 (50 %) та 37 (61 %) відповідно). Аналіз порівняння груп дослідження за даними результатів стандартного алергологічного обстеження за допомогою прик-тестування, провокаційної проби та визначення рівнів специфічних антитіл також показав відсутність статистично значимої різниці ($p > 0,05$).

Виявлено, що на момент включення в дослідження діти з обох груп статистично не відрізнялися за ступенем тяжкості шкірних проявів за шкалою SCORAD. У другій групі переважали діти з ліхеніфікацією та екскоріаціями, що пов'язано з тим, що абсолютна кількість дітей старше 3 років перевищувала таку в основній групі, оскільки саме ці елементи прийнято пов'язувати з більш тривалим

перебігом захворювання. Проте статистична обробка отриманих результатів не виявила впливу цих особливостей на загальну кількість балів SCORAD. Динаміка клінічних проявів не мала статистично значимої різниці на 3 день, проте вже на 10 день медикаментозного лікування в 1 групі дослідження основна частина дітей мала виражену позитивну динаміку, яка статистично достовірно (Mann-Whitney U Test) відрізнялася від 2 групи ($p < 0,05$).

За близьких вихідних даних щодо тяжкості симптомів на шкірі в обох групах на 10 добу від початку терапії медіана та розмах коливань балів за шкалою SCORAD у 1 групі дослідження були статистично меншими (рис. 1).

Достовірно більш виражені зміни спостерігалися майже для всіх морфологічних елементів, окрім еритеми та суб'єктивного відчуття свербіж (таблиця).

Дана особливість свідчить про ефективність запропонованої схеми лікування, у першу чергу, щодо елементів, пов'язаних з сухістю, та її менший вплив на елементи, пов'язані з запаленням (еритема). З іншого боку, статистично достовірна позитивна динаміка щодо відчуття свербіж змінювалася в дітей основної групи конкордантно елементам, пов'язаним із сухістю. Даний факт свідчить на користь того, що свербіж за ХГ більше пов'язаний з порушенням бар'єра, ніж з виділенням гістаміну.

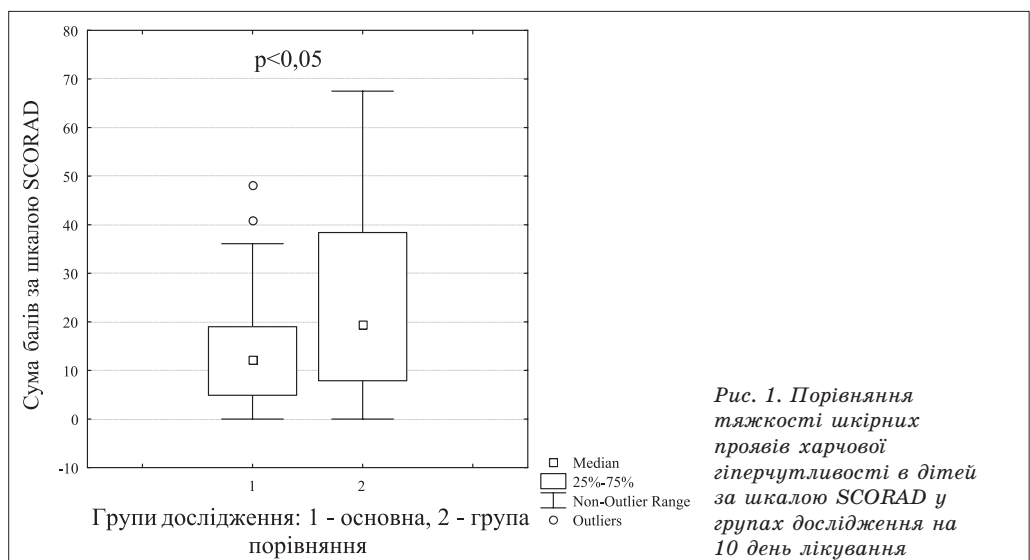


Рис. 1. Порівняння тяжкості шкірних проявів харчової гіперчутливості в дітей за шкалою SCORAD у групах дослідження на 10 день лікування

Порівняльна характеристика тяжкості перебігу шкірних проявів харчової гіперчутливості за шкалою SCORAD та TIS на 10 день медикаментозного лікування

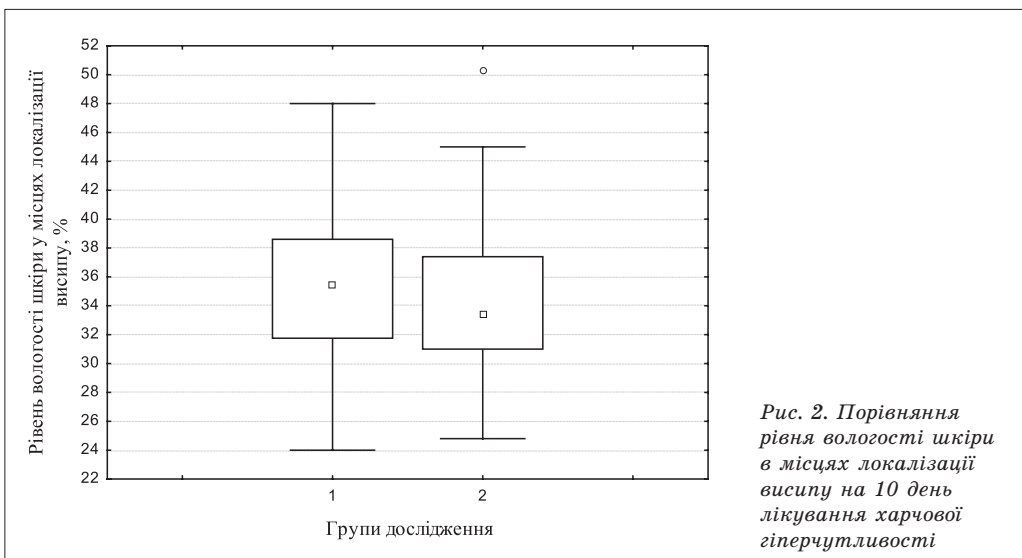
Шкірні прояви	Група дослідження	
	1 основна	2 порівняння
Площа пошкодження, %	9[4;18]*	10[4,5;18]
Еритема, бал	1[0;1]	1[1;1]
Набряк/папули, бал	1[0;1]*	1[1;1]
Корки, бал	0[0;1]*	1[0;1]
Екскоріації, бал	0*	0[0;1]
Ліхеніфікації, бал	0*	0[0;1]
Сухість, бал	1[1;1]*	1[1;2]
Свербіж, бал	0[0;2]*	2[0;3]
Порушення сну	0	0[0;1]
SCORAD сума балів	12,3[9,4;]*	19,4[7,9;38,4]
TIS, сума балів	1[0;]*	2[1;3]

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з 2 групою.

За результатами вимірювання вологості шкіри достовірної різниці між групами дослідження виявлено не було ($p = 0,12$) (рис. 2).

Даний ефект розцінювали як короткостроковий. Щодо довгострокових, то було виявлено, що запропонована схема лікування, на відміну від стандартної, мала віддалені позитивні наслідки. А саме: у дітей 1 групи в подальшому значно рідше спостерігались рецидиви ($U[79; 53] = 1492,5$; $p = 0,001$), та при їхній появі тривалість персистенції шкірних симптомів також була статис-

тично меншою ($U[79; 53] = 1516,5$; $p = 0,001$) і складала частіше за все декілька днів. Даний факт підтверджує гіпотезу про ключову роль пошкодженого шкірного бар'єра у формуванні шкірних проявів ХГ та свідчить про необхідність достатнього зволоження шкіри, що представляє собою фактично «базове» лікування. Підтвердженням цього були дані, отримані в експерименті на тваринах, які показали, що дисфункції бар'єрів можуть призводити до системних змін в імунній системі [9]. У свою чергу, вплив на ці зміни



через корекцію проникності епітелію дозволить отримати модулюючий вплив на внутрішні процеси та досягти контролю над захворюванням.

За подальшої стратифікації за віком нами було виявлено, що довготривалі ефекти запропонованої схеми терапії були статистично валідними для дітей, в яких маніфестація симптомів спостерігалася у віці до року ($p < 0,05$), у той час, як для інших вікових груп значима різниця між відстроченими результатами лікування була відсутньою ($p > 0,05$). Це є результатом наявності інших факторів, що впливають на перебіг ХГ у дітей, та свідчить про включення інших механізмів внаслідок підвищеної проникності шкірного бар'єра. Даний факт підтверджує первинну роль підвищеної проникності епітелію, що передуює змінам імунної реактивності та підкреслює значимість її корекції в організації лікування [7]. Аналіз не виявив ста-

стистично значимого зв'язку клінічного фенотипу шкірних проявів з ефективністю обох підходів до лікування. Різниця була відсутня як у разі аналізу всіх варіантів, так і після узагальнення форм atopічного дерматиту, як найпоширенішої форми клінічної маніфестації й інших рідких форм у дві окремі підгрупи. Отримані дані свідчать про однакову ефективність запропонованої схеми терапії незалежно від клінічного варіанту маніфестації ХГ на шкірі.

Результати кластерного аналізу дозволили виділити по два основні кластери в обох групах порівняння, у цьому разі вузли за різних схем лікування об'єднують різні критерії ефективності, а свербіж у разі базової терапії виділився в окремий кластер (рис. 3).

Так, у разі оптимізованої терапії суб'єктивна сухість шкіри об'єдналася в кластер з тривалістю загострень та їхньою частотою, до яких приєднався

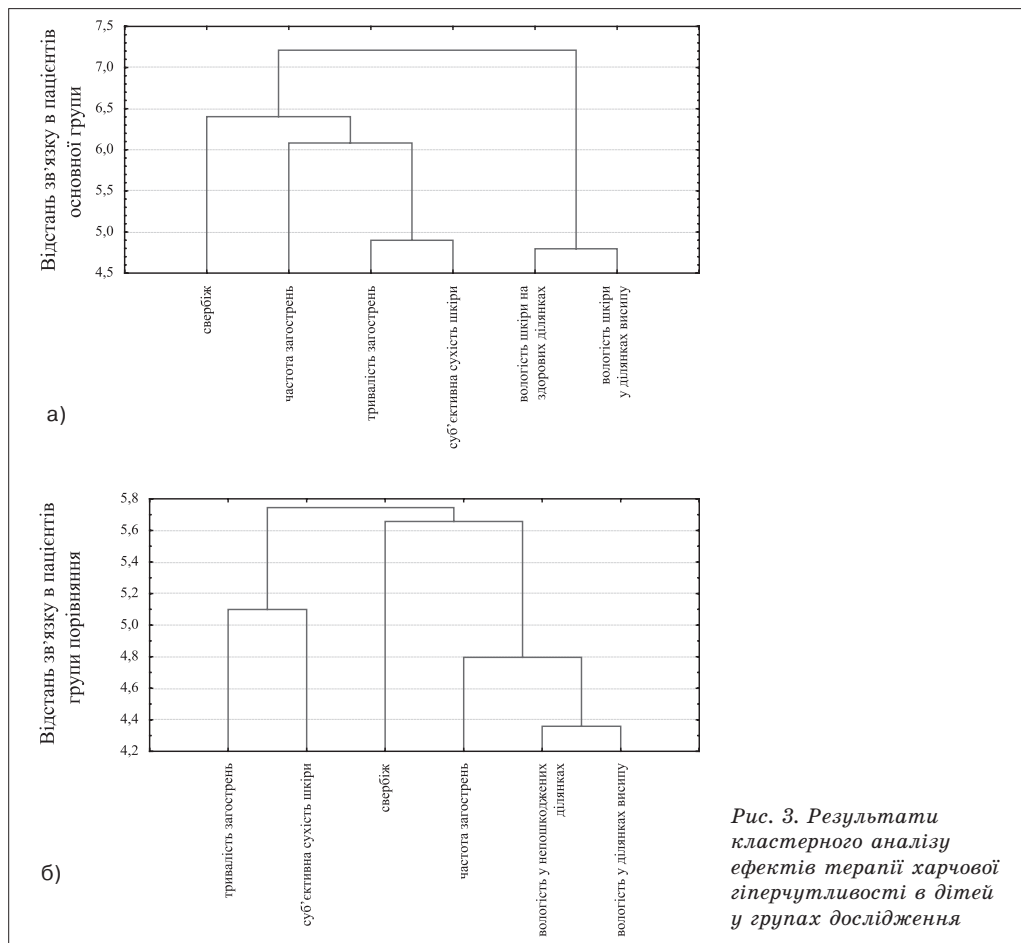


Рис. 3. Результати кластерного аналізу ефектів терапії харчової гіперчутливості в дітей у групах дослідження

свербіж. Вологість шкіри склала другий кластер. Виявлені особливості вказують на важливість оцінки свербіжу, що має прогностичне значення в разі застосування запропонованої схеми лікування та можливість використання рівня вологості шкіри як окремого прогностичного фактора результатів лікування, що має таку саму цінність, як і дані проспективного спостереження. Це вказує на значимість корекції епідермальної дисфункції за ведення дітей з ХГ. На противагу цьому, у групі порівняння рівень вологості шкіри об'єднався в кластер з частотою загострень, а сухості шкіри – з тривалістю загострень. Отримані результати свідчать, що в разі базового лікування оцінка вологості шкіри дозволить прогнозувати тільки частоту загострень, а суб'єктивне відчуття сухості не відображає справжніх змін рівня трансепідермальної втрати рідини.

Висновки

Таким чином, отримані результати показали, що обов'язковим етапом

лікування клінічних проявів ХГ у дітей є використання індиферентних зволожуючих кремів 6–8 раз на день та бактеріальних препаратів, що містять *Bacillus spp. (B. clausii)* та не мають у складі лактози, протягом 10 днів, що дозволяє коригувати дисфункцію шкірного та мукозального бар'єрів. Раннє введення причинного продукту не має негативного впливу на характер перебігу симптомів ХГ. Запропонована схема лікування має як швидкі, так і довготривалі позитивні ефекти незалежно від клінічного фенотипу висипу. Рідше спостерігались рецидиви ($U[79;53] = 1492,5$; $p = 0,001$), тривалість персистенції шкірних симптомів також була меншою ($U[79;53] = 1516,5$; $p = 0,001$). Стійкіші довготривалі ефекти проведеного лікування порівняно зі стандартною схемою ($p < 0,05$) мали діти з маніфестацією симптомів у віці до 1 року. Оцінка відносної вологості шкіри в дітей з симптомами ХГ дозволяє контролювати та прогнозувати як частоту, так і тривалість загострень.

1. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy / A. Muraro, T. Werfel, K. Hoffmann-Sommergruber et al. // *Allergy*. – 2014. – V. 69 (8). – P. 1008–1025.
2. Волосовець А. П. Роль филагрина в алергології дитячого віксту / А. П. Волосовець, С. П. Кривопустов, Е. В. Павлик // *Здоров'я ребенка*. – 2013. – № 2. – С. 156–161.
3. Effects of a New Emollient-Based Treatment on Skin Microflora Balance and Barrier Function in Children with Mild Atopic Dermatitis / Bianchi P., Theunis J., Casas C. [et al.] // *Pediatr. Dermatol.* – 2016. – V. 33 (2). – P. 165–171.
4. Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis / M. J. Cork, S. G. Danby, Y. Vasilopoulou et al. // *J. Invest. Dermatol.* – 2009. – V. 129. – P. 1892–1908.
5. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy / S. C. Bischoff, G. Barbara, W. Buurman [et al.] // *BMC Gastroenterology*. – 2014. – V. 14. – P. 189.
6. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention / Simpson E. L., Chalmers J. R., Hanifin J. M. [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – V. 134 (4). – P. 818–823.
7. Skin barrier impairment at birth predicts food allergy at 2 years of age / M. M. Kelleher, A. Dunn-Galvin, C. Gray [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016. – V. 137 (4). – P. 1111–1116.e8.
8. Уманець Т. Р. Імуномодулюючі ефекти пробіотиків / Т. Р. Уманець // *Укр. Мед. Часопис*. – 2017. 18 квітня. URL: www.umj.com.ua.
9. Skin inflammation exacerbates food allergy symptoms in epicutaneously sensitized mice / A. Kawasaki, N. Ito, N. Murai [et al.] // *Allergy*. – 2018. URL: doi: 10.1111/all.13404. [Epub ahead of print].

О. П. Пахольчук

Оцінка патогенетично обґрунтованого лікування шкірних проявів харчової гіперчутливості в дітей

Пошук підходів до корекції ключових ланок патогенезу за симптомів харчової гіперчутливості (ХГ) у дітей залишається перспективним напрямом досліджень.

Мета дослідження – вивчити клінічну ефективність патогенетично обґрунтованої схеми терапії шкірних проявів ХГ у дітей.

У 2011–2016 роках у дослідження після аналізу відібрано 1780 амбулаторних карт і загальноклінічного обстеження дітей віком від 1 місяця до 18 років, подальшу участь у дослідженні продовжили 148 пацієнтів. Випадковим методом вони були розподілені на 2 групи лікування: 1 – основна, 2 – порівняння. 1 група ($n = 88$) отримувала патогенетично обґрунтовану терапію, націлену на корекцію шкірного та кишкового бар'єрів впродовж 10 днів. 2 група ($n = 60$) отримувала традиційне базове лікування.

На 10 добу від початку терапії медіана та розмах коливань балів за шкалою SCORAD у 1 групі дослідження були статистично меншими ($p < 0,05$). Рідше спостерігались рецидиви ($U[79;53] = 1492,5$; $p = 0,001$), і тривалість персистенції шкірних симптомів також була статистично меншою ($U[79;53] = 1516,5$; $p = 0,001$) порівняно з 2 групою. Стейкіші довготривалі ефекти проведеного лікування порівняно з стандартною схемою ($p < 0,05$) мали діти з маніфестацією симптомів у віці до 1 року. Оцінка відносної вологості шкіри в дітей з симптомами ХГ на шкірі дозволяє контролювати та прогнозувати як частоту, так і тривалість загострень.

Таким чином, запропонована схема лікування має як швидкі, так і довготривалі ефекти незалежно від клінічного фенотипу висипу.

Ключові слова: діти, харчова гіперчутливість, емолієнти, епідермальна дисфункція, мукозальна дисфункція, ентеросептики

О. П. Пахольчук

Оценка патогенетически обоснованного лечения кожных проявлений пищевой гиперчувствительности у детей

Поиск подходов к коррекции ключевых звеньев патогенеза при симптомах пищевой гиперчувствительности (ПГ) у детей остается перспективным направлением исследований.

Цель исследования – изучить клиническую эффективность патогенетически обоснованной схемы терапии кожных проявлений ПГ у детей.

С 2011 по 2016 годы после анализа 1780 амбулаторных карт и общеклинического обследования детей в возрасте от 1 месяца до 18 лет дальнейшее участие в исследовании приняли 148 пациентов. Случайным образом дети были распределены на 2 группы лечения: 1 – основная, 2 – сравнения. 1 группа ($n = 88$) получала патогенетически обоснованную терапию, направленную на коррекцию кожного и мукозального барьеров в течение 10 дней. 2 группа ($n = 60$) получала традиционное базисное лечение.

На 10 сутки от начала терапии медиана и размах колебаний баллов по шкале SCORAD в 1 группе были статистически меньшими ($p < 0,05$). Реже наблюдались рецидивы ($U[79;53] = 1492,5$; $p = 0,001$) и длительность персистенции кожных симптомов также была меньшей ($U[79;53] = 1516,5$; $p = 0,001$) по сравнению со 2 группой. Более стойкие длительные эффекты от проведенного лечения наблюдали у детей с манифестацией симптомов в возрасте до 1 года ($p < 0,05$). Оценка относительной влажности кожи у детей с симптомами ПГ позволяет контролировать и прогнозировать как частоту, так и длительность обострений.

Таким образом, предложенная схема лечения имеет как быстрые, так и длительные эффекты, независимо от клинического фенотипа высыпаний.

Ключевые слова: дети, пищевая гиперчувствительность, эпидермальная дисфункция, мукозальная дисфункция, энтеросептики

O. P. Pakholchuk

Evaluation of the pathogenetically substantiated therapy of the skin symptoms at the food hypersensitivity in children

Further searching of the ways for the correction of the key links of the food hypersensitivity (FH) skin symptoms remains perspective.

The aim of the study was to evaluate pathogenetically substantiated therapy of the skin FH symptoms in children.

From 2011 to 2016 after analyzes of the primary documentation of the 1780 children aged from 1 month to 18 years, 148 eligible patients were randomly divided into 2 groups of treatment. The 1st group ($n=88$) was prescribed pathogenetically substantiated therapy during 10 days, which was aimed on the epidermal and mucosal barrier's dysfunction.

Median and interquartile variation of the SCORAD scale results in the 1st group was statistically less ($p<0,05$). Exacerbations ($U[79;53]=1492,5$; $p=0,001$) and duration of the skin symptoms persistence ($U[79;53]=1516,5$; $p=0,001$) were rare in comparison to the 2nd group. Children with debut of the symptoms before 12 months of age had better prolonged effect ($p<0,05$). Assessment of the relative humidity of the skin enables to control and to predict frequency and persistency of the FH skin symptoms equally.

Pathogenetically substantiated therapy of the skin FH symptoms in children had as quick as long-term effects independently from clinical phenotype.

Key words: children, food hypersensitivity, emollients, epidermal dysfunction, mucosal dysfunction, enteroseptics

Надійшла: 10 січня 2018 р.

Контактна особа: Пахольчук Ольга Петрівна, кандидат медичних наук, доцент, кафедра факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, буд. 28 А, вул. Новгородська, м. Запоріжжя, 69076. Тел.: + 38 0 61 224 94 07.
Електронна пошта: olgapakholchuk@gmail.com

С. А. Гращенко, О. Ю. Кошова, Л. В. Яковлева

Дослідження гострої та специфічної токсичності таблеток «Елгацин», засобу геропротекторної дії

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: гостра, специфічна токсичність, геропротектори, таблетки «Елгацин»

Численні роботи останніх років переконливо свідчать про те, що «оксидативний стрес» є універсальним чинником захворювань, асоційованих з віком: атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, нейро-дегенеративних захворювань тощо [1, 2], що зумовлює доцільність застосування засобів з антиоксидантним механізмом дії для підвищення адаптаційних властивостей організму людини до вікових змін та уповільнення процесів старіння.

З цієї точки зору привертає увагу оригінальний препарат природного походження – таблетки «Елгацин», діючими компонентами якого є елаготаніни з суплідь (шишок) вільхи клейкої та сірої (*Alnus glutinosa* L., *Alnus cinerea* L.) род Березових (*Betulaceae*). Уперше субстанція елгацину вилучена за допомогою методу латентного гідролізу елаготанінів на кафедрі ботаніки Національного фармацевтичного університету доцентом О. П. Хворост під керівництвом професора А. Г. Сербіна. У подальшому вченими ВАТ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» удосконалена технологія отримання субстанції та створені на її основі таблетки «Елгацин». Проведений комплекс досліджень специфічної активності таблеток «Елгацин» свідчить про його виразну кардіопротекторну дію [3, 4], що стало підґрунтям для дослідження його геропротекторних властивостей. Отримані дані доводять виразну ефективність досліджуваного засобу щодо уповільнення вікових змін функціонального стану серця та печінки, коригування вікових змін обмінних процесів за рахунок зниження інтенсивності вільнорадикального окиснення та підви-

щення антиоксидантного захисту організму тварин [5, 6].

Отримані нами дані обґрунтовують перспективність розробок препаратів геропротекторної дії на основі природної рослинної сировини, зокрема елгацину. На користь цього свідчить широта фармакологічних властивостей субстанції та спорідненість біологічно активних сполук, що містяться в рослинній сировині, з наявними в тканинах організму. Але залишається не вирішеним питання щодо безпеки застосування лікарських засобів на основі цієї субстанції в осіб похилого віку.

Мета дослідження – встановлення гострої та специфічної токсичності таблеток «Елгацин» на тваринах передстаречого та старечого віку, а саме: визначення класу гострої токсичності, наявності алергізувальної та кумулятивної дії, впливу на шлунково-кишковий тракт.

Матеріали та методи. Дослідження проведено з дотриманням правил «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) [7].

Відповідно до методичних рекомендацій [8, 9] гостру та специфічну токсичність таблеток «Елгацин» вивчали на тваринах передстаречого та старечого віку (18–20 міс.). Як контроль використовували молодих тварин репродуктивного віку (6 міс.). Досліди проведені на щурах обох статей масою 220–300 г (самки) і 280–350 г (самці), мишах масою 30–35 г та мурчаках масою 850–1000 г. Експериментальні тварини знаходилися в окремих кімнатах з контрольованими параметрами мікроклімату: температурою повітря +20–24 °С, вологістю 45–65 %, за світлового режиму

«12 год день/ніч» з вільним доступом до води та їжі.

Відповідно до методичних рекомендацій [8, 9] гостру токсичність таблеток «Елгацин» досліджували на двох видах тварин (самцях і самках щурів та самках мишей) передстаречого віку. Застосовували два шляхи введення: внутрішньошлунковий, який передбачається для застосування препарату в клініці, та внутрішньоочеревинний – для визначення системного впливу засобу [8].

Досліди проведені на 84 білих безпородних щурах обох статей (42 самці, 42 самки) та 42 самках мишей. Кожна експериментальна група щурів включала по 6 самців і 6 самок: група інтактного контролю, група тварин, яким вводили водну суспензію таблеток «Елгацин» внутрішньошлунково в дозі 5000 мг/кг, та групи тварин, яким вводили цю суспензію внутрішньоочеревинно у дозах 385, 578, 771, 964 та 1157 мг/кг відповідно. Мишей розподілили по групах: група інтактного контролю, другій групі тварин вводили водну суспензію таблеток «Елгацин» внутрішньошлунково в дозі 5000 мг/кг і групи тварин, яким вводили її внутрішньоочеревинно у дозах 193, 385, 578, 771 та 1157 мг/кг відповідно.

У даному та інших дослідженнях таблетки «Елгацин» вводили тваринам у вигляді водної суспензії, стабілізованої твіном-80 [8].

Доступ тварин до води був вільним, до їжі їх допускали лише через 3 год після введення досліджуваного препарату. За фізіологічним станом тварин спостерігали 2 тижні. Масу тіла визначали в динаміці: вихідні дані, на 3, 7 та 14 день експерименту. Після закінчення терміну спостереження проводили розтин і макроскопічний огляд внутрішніх органів щурів та мишей. У щурів визначали абсолютну масу печінки, нирок, легень, серця, селезінки, тимусу, наднирників, сім'яників. На підставі цих даних розраховували відносну масу внутрішніх органів (коефіцієнти маси, %, КМ) за формулою: $KM_{органу} = \frac{M_{органу}}{m_{маса}} \cdot 100$ тварини. Середньоletalну дозу таблеток «Елгацин» розраховували за допомогою методу

найменших квадратів для пробіт-аналізу та кривих летальності за Прозоровським [10].

Дослідження впливу таблеток «Елгацин» на секреторну функцію шлунка щурів вивчали за методом Шарової [11]. Відповідно до методики після 48-год голодування за вільного доступу до питної води щурів самців розподілили на контрольну та дослідну групи. Тваринам дослідної групи внутрішньошлунково одноразово вводили суспензію, отриману з таблеток «Елгацин», у дозі 12 мг/кг (за масою таблетки), контрольним тваринам – еквівалентну кількість води в об'ємі 1 мл/100 г маси тіла. Через 1 год тварин наркотизували, після лапаротомії накладали лігатуру на пілоричний сфінктер шлунка. Через 4 год накладали лігатуру на кардіальний сфінктер, вилучали шлунок і вимірювали об'єм шлункового соку. Визначали його загальну кислотність титруванням 0,1 N розчином натрію гідроксиду в присутності фенолфталеїну та бромтимолового синього. Загальну та вільну кислотність виражали через об'єм 0,1 N розчину натрію гідроксиду, необхідний для нейтралізації 100 мл шлункового соку. Зв'язану кислотність визначали за різницею між загальною та вільною кислотністю.

Здатність таблеток «Елгацин» впливати на рухову активність ШКТ вивчали за методом Stickney I. S. та співавт. [12]. Елгацин вводили внутрішньошлунково мишам у дозі 17 мг/кг (доза перерахована з умовнотерапевтичної дози для щурів за методом Ю. П. Риболвлева [13]) у вигляді водної суспензії по 0,1 мл/10 г маси, контрольній групі тварин вводили еквівалентну кількість води. Відповідно до методики через 1 год після введення препарату всім тваринам внутрішньошлунково вводили по 0,3 мл контрастної маси (10 % суспензія активованого вугілля в 1 % крохмальному клейстері). Через 40 хв тварин виводили з експерименту, вилучали кишечник і вимірювали загальну довжину кишечника (см) та ділянок, що заповнені контрастною масою. Як інтегральний показник, що характеризує силу перистальтики кишечника, використовували відсоток довжини

кишечника (Д %), заповнений контрастною масою, за формулою:

$D \% = D_{\text{пк}} / D_{\text{к}} \cdot 100 \%$, де $D_{\text{к}}$ – загальна довжина кишечника (см); $D_{\text{пк}}$ – шлях, пройдений контрастною масою по кишечнику за 40 хв (см).

Вивчення алергізувальних властивостей таблеток «Елгацин» проводили відповідно до методичних рекомендацій [14]. Здатність досліджуваного засобу викликати реакції гіперчутливості негайного типу вивчали в тесті *in vitro* «Непряма дегрануляція мастоцитів» [14]. Реакція непрямой дегрануляції мастоцитів (РНДМ) виявляє здатність досліджуваного препарату викликати утворення гомоцитотропних антитіл у результаті взаємодії перитонеальних мастоцитів, отриманих від інтактних щурів, з сироваткою крові сенсibilізованої тварини під впливом відповідного алергену. У експерименті використовували дві контрольні групи інтактних тварин репродуктивного та передстаречого віку та дві дослідні групи щурів передстаречого віку, яких сенсibilізували внутрішньошлунковим введенням суспензії з таблеток «Елгацин» у дозах 12 та 120 мг/кг протягом 2 тижнів. На 21 добу тварин виводили з досліду, одержували сироватку крові. У попередніх експериментах визначали концентрацію суспензії таблеток «Елгацин», що викликає не більше ніж 10 % неспецифічної дегрануляції мастоцитів. Препарати готували на попередньо пофарбованих 0,3 % спиртовим розчином нейтрального червоного предметних скельцях відповідно до методичних рекомендацій [14]. Враховували контроль сироватки та контроль спонтанної дегрануляції мастоцитів. Відносну кількість дегранульованих мастоцитів підраховували за допомогою світлової мікроскопії. Реакцію вважали позитивною, якщо кількість дегранульованих клітин перевищувала 10 %. Сенсibilізувальну дію оцінювали за шкалою: слабка – 10–20 % дегранульованих клітин; позитивна – 20–30 %; різко позитивна – понад 30 %.

Здатність таблеток «Елгацин» індукувати алергійні реакції як негайного, так і сповільненого типу досліджували в тесті *in vivo* «Кон'юнктивальна проба»

[14]. Мурчаків передстаречого віку (масою тіла 850–1000 г) та репродуктивного віку (масою тіла 300–420 г) сенсibilізували пероральним введенням таблеток «Елгацин» у дозах 12 та 120 мг/кг протягом 14 діб. На 21 добу від початку сенсibilізації всім тваринам під верхнє повіко закапували по 1 краплі водної суспензії препарату. Ліве око було контролем, у нього вводили 1 краплю води. Реакцію слизової оболонки ока реєстрували через 15 хв після закапування води або препарату (розвиток алергічної реакції за механізмом негайного типу) та через 24 і 48 год (розвиток алергічної реакції за механізмом сповільненого типу). Офтальмореакцію на введення потенційного антигена виражали в балах: 1 бал – легке почервоніння слизового протоку; 2 бали – почервоніння слизового протоку та склери в напрямку до роговиці; 3 бали – почервоніння всієї кон'юнктиви та склери.

Визначення кумулятивних властивостей таблеток «Елгацин» проведено за методом Lim та співавт. на 12 щурах обох статей передстаречого віку (6 самців, 6 самок) [15].

Отримані результати оцінювали за допомогою програми Statistica 6.0. Використано параметричні методи (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) та непараметричні методи (Крускала-Уолліса та критерій Манна-Уїтні). Відмінності між групами вважали значущими в разі $p < 0,05$ [16].

Результати та їх обговорення. *Результати дослідження гострої токсичності таблеток «Елгацин».* За внутрішньошлункового введення Елгацину в дозі 5000 мг/кг ознак інтоксикації не спостерігали, поведінка та загальний стан тварин не відрізнялися від тварин з групи інтактного контролю (ІК). Загибель тварин не відзначалася. Спостереження протягом 14 діб не виявило змін загального стану дослідних тварин: стан вовняного й шкірного покривів, видимих слизових оболонок, поведінка, споживання їжі та води не відрізнялися від тварин ІК. Маса тварин коливалась у межах значень групи ІК, достовірних відхилень не зафіксовано.

Макроскопічні дослідження показали, що внутрішні органи в черевній і грудній порожнинах були звичайними за кольором та консистенцією, відповідали нормальним анатомо-топографічним параметрам. Ознаки таких патологічних процесів, як запалення, розлад кровообігу, атрофія, гіпертрофія в паренхіматозних органах, подразнення слизової оболонки (СО) шлунка в дослідних тварин не виявлені. Коефіцієнти мас окремих внутрішніх органів щурів (табл. 1) мали достовірні відмінності щодо показників інтактних тварин як у групах самців, так і самок. Коефіцієнти мас обох нирок і серця в самців щурів, яким вводили Елгацин, були статистично значуще меншими,

ніж у тварин з групи ІК, у самок – КМ печінки та правої нирки були навпаки вище.

За внутрішньоочеревинного введення Елгацину через 2–3 хв як у щурів обох статей, так і в мишей спостерігали черевні спазми, пригніченість рухової активності, сонливість. Тварини займали положення на череві, проте реакція на зовнішні подразники зберігалася. На 1–2 добу в щурів спостерігали підвищену лакримацію (2 випадки кровавої), у мишей – екзофтальм (1 випадок). Виразність вищенаведених ознак наростала зі збільшенням дози препарату. На 1–3 добу фіксували загибель тварин (табл. 2). Визначення маси тіла показало, що як у самців, так і в самок

Таблиця 1

Коефіцієнти мас внутрішніх органів щурів за внутрішньошлункового введення таблеток «Елгацин» у дозі 5000 мг/кг, %, $M \pm t$

Внутрішній орган		Експериментальна група			
		Самці		Самки	
		Інтактний контроль	Таблетки «Елгацин»	Інтактний контроль	Таблетки «Елгацин»
Печінка		3,02 ± 0,19	2,90 ± 0,08	2,72 ± 0,14	3,28 ± 0,07*
Нирка	Права	0,39 ± 0,01	0,31 ± 0,01*	0,33 ± 0,01	0,36 ± 0,01*
	Ліва	0,39 ± 0,01	0,31 ± 0,01*	0,33 ± 0,02	0,36 ± 0,01
Серце		0,40 ± 0,03	0,31 ± 0,01*	0,35 ± 0,02	0,36 ± 0,01
Легені		0,89 ± 0,21	0,61 ± 0,04	0,83 ± 0,09	0,92 ± 0,08
Селезінка		0,33 ± 0,03	0,29 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,36 ± 0,02
Наднирники		0,019 ± 0,002	0,016 ± 0,001	0,025 ± 0,003	0,029 ± 0,001
Тимус		0,041 ± 0,008	0,035 ± 0,001	0,058 ± 0,007	0,051 ± 0,003
Сім'яник	Правий	0,34 ± 0,05	0,45 ± 0,01	–	–
	Лівий	0,36 ± 0,07	0,45 ± 0,02	–	–

Примітка.*Відхилення статистично значущі щодо значень групи інтактного контролю, $p < 0,05$.

Таблиця 2

Летальність тварин передстаречого віку за внутрішньоочеревинного введення таблеток «Елгацин»

Таблетки «Елгацин», мг/кг	Щури, самці	Щури, самки	Миші, самки
193	–	–	0/6
385	0/6	0/6	2/6
578	–	2/6	4/6
771	2/6	4/6	5/6
964	3/6	5/6	–
1157	5/6	6/6	6/6
1927	6/6	–	–

Примітка. «–» – доза не вивчалася.

щурів, що вижили після внутрішньо-очеревинного введення Елгацину в різних дозах, на 3 і 7 добу відбувається її зниження, з поступовим підвищенням на 14 добу (табл. 3).

Проте на динаміку маси тіла самок мишей, що вижили, таблетки «Елгацин» суттєво не впливали. Аналізуючи отримані дані, можна припустити, що статистично значуще відхилення коефіцієнтів маси внутрішніх органів тварин, що вижили, від значень групи ІК пов'язано з втратою маси тіла, яка викликана інтоксикацією. Патоморфологічні дослідження, проведені по закінченні терміну спостереження, показали відсутність візуальних змін з боку внутрішніх органів щурів і мишей. За допомогою методу найменших квадратів [8] були розраховані середньо-

летальні дози (ЛД₅₀) таблеток «Елгацин» за внутрішньоочеревинного введення, які для самців щурів склали (976 ± 163) мг/кг; для самок щурів – (686 ± 89) мг/кг; для самок мишей – (537 ± 97) мг/кг.

Отже, за внутрішньоочеревинного введення Елгацину спостерігаються певні статеві та видові відмінності чутливості тварин до препарату – найчутливішими є самки щурів і мишей. У разі внутрішньоплункового введення статеві та видові відмінності були відсутні. Таблетки «Елгацин» за внутрішньоплункового введення щурам обох статей і самкам мишей відносяться до 5 класу токсичності – практично нетоксичних речовин, за внутрішньоочеревинного – до 4 класу – малотоксичних речовин.

Таблиця 3

Динаміка маси експериментальних тварин за внутрішньоочеревинного введення таблеток «Елгацин», г (M ± m)

Експериментальна група	Доза, мг/кг	Маса тварин, г			
		вихідні дані	через 3 дні	через 7 днів	через 14 днів
Щури самці					
Інтактний контроль	–	383 ± 18	378 ± 19	362 ± 21	355 ± 19
Таблетки «Елгацин»	385	417 ± 14	388 ± 15	388 ± 13	398 ± 15
	771	400 ± 22	374 ± 24	368 ± 29	378 ± 34
	964	406 ± 31	438 ± 38	435 ± 35	435 ± 43
	1157	409 ± 33	270 ± 55*	268 ± 18*	215*
	1927	398 ± 31	–	–	–
Щури самиці					
Інтактний контроль	–	268 ± 13	271 ± 14	268 ± 14	264 ± 16
Таблетки «Елгацин»	385	258 ± 8	238 ± 7	228 ± 6	233 ± 6
	578	258 ± 11	215 ± 5	214 ± 5	225 ± 5
	771	261 ± 14	230 ± 0	223 ± 23*	253 ± 23
	964	264 ± 15	275	285*	310*
	1157	258 ± 13	–	–	–
Миші самиці					
Інтактний контроль		33 ± 1	33 ± 1	34 ± 1	33 ± 1
Таблетки «Елгацин»	193	33 ± 1	32 ± 1	31 ± 1	32 ± 1
	385	34 ± 1	35 ± 1	34±1	35 ± 1
	578	34 ± 1	33 ± 3	33±3	34 ± 2
	771	33 ± 1	34	35	35
	1157	34 ± 2	–	–	–

Примітки. *Відхилення статистично значуще щодо вихідних значень, $p < 0,05$; кількість тварин у групах – див. табл. 2.

Визначення кумулятивних властивостей таблеток «Елгацин» проведено на щурах передстаречого віку за методом Lim та співавт. [15]. Відповідно до методики, препарат вводили щурам внутрішньошлунково протягом 28 днів у зростаючих дозах, що складають 0,1; 0,15; 0,22; 0,34; 0,5; 0,75; 1,12 від максимальної дози, яку вводили тваринам за вивчення гострої токсичності (5000 мг/кг). Збільшення дози проводили кожні 4 дні з огляду на динаміку маси тіла тварин, враховували дні загибелі щурів і сумарні дози введеного препарату. Протягом експерименту зовнішніх ознак отруєння не спостерігали. Щури були охайними, добре поїдали корм, нормально реагували на світлові та звукові подразники. Загибель тварин не відзначали. Отже, таблетки «Елгацин» не мають кумулятивних властивостей.

Вплив таблеток «Елгацин» на секреторну функцію шлунка. Відповідно до отриманих даних Елгацин за внутрішньошлункового введення не змінює секреторну функцію шлунка щурів передстаречого віку – об'єм шлункового соку та його кислотність не відрізнялися від показників тварин з групи ІК (табл. 4).

За визначення впливу таблеток «Елгацин» на рухову активність кишечника встановлено, що досліджуваний засіб не впливає на перистальтику ШКТ мишей передстаречого віку (табл. 5).

Вивчення можливої алергізувальної дії таблеток «Елгацин». Внутрішньошлункове введення досліджуваного засобу в дозах 12 і 120 мг/кг не призводило до посилення дегрануляції мастоцитів у тесті «РНДМ», що свідчить про відсутність утворення гомоцитотропних антитіл (IgE) під впливом таблеток «Елгацин».

Вивчення алергізувальних властивостей таблеток «Елгацин» у тесті «Кон'юнктивальна проба» показало відсутність алергічної запальної реакції слизової оболонки ока на введення досліджуваного засобу. Отже, таблетки «Елгацин» не чинять сенсibilізувальної дії в тесті «Кон'юнктивальна проба» та не провокують алергічних реакцій за сповільненим типом розвитку.

Висновки

1. Встановлено, що за показником середньолетальної дози таблетки «Елгацин» належать до класу практично нетоксичних речовин за внутрішньошлункового введення та до

Таблиця 4

Вплив таблеток «Елгацин» на секреторну функцію шлунка щурів передстаречого віку ($M \pm m$, $n = 7$)

Група тварин	Об'єм шлункового соку, мл/100 г маси тварини	Загальна кислотність, мл 0,1 N NaOH/100 мл шлункового соку	Вільна кислотність, мл 0,1 N NaOH/100 мл шлункового соку	Зв'язана кислотність, мл 0,1 N NaOH/100 мл шлункового соку
Інтактний контроль	$1,50 \pm 0,27$	$135,08 \pm 13,03$	$95,13 \pm 12,44$	$39,96 \pm 2,84$
Таблетки «Елгацин», 12 мг/кг	$1,67 \pm 0,36$	$127,65 \pm 11,62$	$78,71 \pm 14,15$	$48,93 \pm 6,43$

Таблиця 5

Вплив таблеток «Елгацин» на рухову активність шлунково-кишкового тракту мишей передстаречого віку ($M \pm m$, $n = 7$)

Група тварин	D_k , см	$D_{пк}$, см	Відсоток кишечника з контрастною масою, %
Контроль	$66,0 \pm 1,39$	$36,99 \pm 1,07$	56
Таблетки «Елгацин», 17 мг/кг	$67,33 \pm 2,64$	$39,60 \pm 2,44$	59

Примітка. n – кількість тварин у кожній групі.

- класу малотоксичних – за внутрішньоочеревинного введення щурам і мишам передстаречого віку.
2. Показано, що таблетки «Елгацин» не мають кумулятивної дії, не впливають на секреторну функцію шлунка та не змінюють рухову активність ШКТ.
 3. Таблетки «Елгацин» у дозах 12 і 120 мг/кг не провокують розвиток алергічних реакцій негайного та сповільненого типу в тварин передстаречого віку в тесті «Кон'юнктивальна проба» та не посилюють деградуляцію мастоцитів *in vitro*.
 4. Проведене токсикологічне дослідження дозволяє зробити висновок про відносну безпечність застосування таблеток «Елгацин» у тварин похилого віку, але для остаточного висновку потрібні подальші токсикологічні дослідження.
1. Фармакотерапия в гериатрической практике: руководство для врачей / Р. К. Кантемирова, В. Г. Чернобай, А. Л. Арьев, С. Д. Дзахова. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2010. – 160 с.
 2. Парахонский А. П. Особенности фармакотерапии в пожилом возрасте / А. П. Парахонский, С. С. Цыганок // Фундаментальные исследования. – 2005. – № 7. – С. 78.
 3. Яковлева Л. В. Дослідження кардіопротекторних властивостей елгацину на моделі експериментальної ішемії міокарда у собак / Л. В. Яковлева, Т. С. Сахарова // Клінічна фармація. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 40–42.
 4. Яковлева Л. В. Метаболічні ефекти елгацину – нового кардіопротекторного лікарського засобу на основі елаготанінів вільхи / Л. В. Яковлева, Т. С. Сахарова // Труды Крымского государственного медицинского университета им. С. И. Георгиевского: «Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения». – 2005. – Т. 141, Ч. IV. – С. 128.
 5. Єгорова О. О. Вплив елгацину на стан про/антиоксидантних процесів в організмі старіючих щурів за умови експериментальних патологій сечостатевої системи / О. О. Єгорова, Л. В. Яковлева, О. Ю. Кошова // Укр. біофарм. журнал. – 2015. – № 4. – С. 36–40.
 6. Сахарова Т. С. Експериментальне дослідження впливу рослинних препаратів поліфенольного складу на функціонування антипероксидної ферментативної системи печінки / Т. С. Сахарова, Ю. В. Нікітченко, В. М. Дзюба // Мед. хімія. – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 52–55.
 7. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 11 p.
 8. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації: за ред. О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – С. 74–97.
 9. Доклінічне вивчення гериатричних препаратів / В. В. Фролькіс, Л. П. Купраш, І. С. Безверха [та ін.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації: за ред. О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – С. 444–456.
 10. Прозоровский В. Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В. Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7, № 3–4. – С. 2090–2120.
 11. Андреева А. И. Некоторые показатели влияния пиразидола на желудочно-кишечный тракт / А. И. Андреева, С. А. Шарова // Фармакология и токсикология. – 1978. – № 4. – С. 428–432.
 12. Sticknay J. S. Correlation between progressive motility and length of the small-intestine in albino rats and dogs / J. S. Sticknay, E. J. Van Liere, D. W. Narthup // Amer. J. Physiol. – 1951. – V. 167, № 2. – P. 399–402.
 13. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
 14. Доклінічне вивчення сенсibiliзуючої дії лікарських засобів. Методичні рекомендації. – Київ, 2002. – С. 5–27.
 15. A method for the evaluation of cumulation and by the determination of acute and subchronic median effective doses / Lim R. K. S., Rink K. C. [et al.] // Arch. Int. Pharmacolin. – 1961. – V. 130, № 3–4. – P. 336–353.
 16. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica / О. Ю. Реброва. – Київ : МедиаСфера. – 2006. – 312 с.

С. А. Гращенкова, О. Ю. Кошова, Л. В. Яковлева

Дослідження гострої та специфічної токсичності таблеток «Елгацин», засобу геропротекторної дії

На тваринах передстаречого віку проведено вивчення гострої та специфічної токсичності нового оригінального геропротекторного засобу антиоксидантної дії на основі елагової кислоти – таблеток «Елгацин».

Показано, що таблетки «Елгацин» не викликають загибель тварин за внутрішньошлункового введення в дозі 5000 мг/кг, що дозволяє віднести їх до класу практично нетоксичних речовин (5 клас токсичності). За внутрішньоочеревинного введення таблетки «Елгацин» відносяться до класу малотоксичних речовин (4 клас токсичності). Середньолетальна доза таблеток «Елгацин» за введення для самців щурів дорівнює 976 мг/кг, для самок щурів – 686 мг/кг, для самок мишей – 537 мг/кг.

Таблетки «Елгацин» за внутрішньошлункового введення в умовнотерапевтичній дозі 12 мг/кг та дозі, що перевищує її в 10 разів, 120 мг/кг не провокують розвиток алергічних реакцій за негайним та сповільненим типом, не впливають на секреторну функцію шлунка, рухову активність шлунково-кишкового тракту та не виявляють кумулятивні властивості.

Таким чином, проведене токсикологічне дослідження дозволяє зробити висновок про відносну безпечність застосування таблеток «Елгацин» у тварин похилого віку, проте для остаточних висновків потрібні подальші токсикологічні дослідження засобу.

Ключові слова: гостра токсичність, специфічна токсичність, геропротектори, таблетки «Елгацин»

С. А. Гращенкова, Е. Ю. Кошова, Л. В. Яковлева

Изучение острой и специфической токсичности таблеток «Элгацин», препарата геропротекторного действия

На животных предстарческого возраста проведено изучение острой и специфической токсичности нового оригинального геропротекторного препарата антиоксидантного действия на основе эллаговой кислоты – таблеток «Элгацин».

Показано, что таблетки «Элгацин» не вызывают гибель животных при внутрижелудочном введении в дозе 5000 мг/кг, что позволяет отнести их к классу практически нетоксичных веществ (5 класс токсичности). При внутрибрюшинном введении таблетки «Элгацин» относятся к классу малотоксичных веществ (4 класс токсичности). Среднелетальная доза таблеток «Элгацин» при внутрибрюшинном введении для самцов крыс равна 976 мг/кг, для самок крыс – 686 мг/кг, для самок мышей – 537 мг/кг.

Таблетки «Элгацин» при внутрижелудочном введении в условнотерапевтической дозе 12 мг/кг и дозе, превышающей ее в 10 раз, 120 мг/кг не провоцируют развитие аллергических реакций немедленного и замедленного типа, не влияют на секреторную функцию желудка и двигательную активность желудочно-кишечного тракта, не проявляют кумулятивные свойства.

Проведенное токсикологическое исследование позволяет сделать вывод об относительной безопасности применения таблеток «Элгацин» у стареющих животных, однако для окончательного вывода необходимы дальнейшие токсикологические исследования препарата.

Ключевые слова: острая токсичность, специфическая токсичность, геропротекторы, таблетки «Элгацин»

S. A. Grashchenkova, O. Yu. Koshova, L. V. Iakovlieva

Study of acute and specific toxicity of Elgacin tablets, agent of geroprotective action

A study of the acute and specific toxicity of the new original geroprotective agent with antioxidant action based on the ellagic acid Elgacin tablets was conducted on presenile age animals.

It is shown that Elgacin tablets do not cause death of animals after intragastric administration at a dose of 5000 mg/kg. This allows them to be classified as practically non-toxic substances (class 5 toxicity). Elgacin tablets belong to the class of low-toxic substances (class 4 toxicity) at intraperitoneal administration (i. p.). The average lethal dose of Elgacin tablets for male rats is 976 mg/kg, for female rats – 686 mg/kg, for female mice – 537 mg/kg.

Elgacin tablets after intragastric administration in the conventional therapeutic dose of 12 mg/kg and a dose exceeding it in 10 times, 120 mg/kg, do not provoke the development of allergic reactions of immediate and delayed types, do not affect the secretory function of the stomach and motor activity of the gastrointestinal tract, do not show cumulative properties.

The conducted toxicological research allows to draw a conclusion about relative safety of application of Elgacin tablets in old animals but for the final withdrawal, further toxicological studies are needed.

Key words: acute toxicity, specific toxicity, geroprotectors, Elgacin tablets

Надійшла: 15 січня 2018 р.

Контактна особа: Гращенкова Світлана Анатоліївна, науковий співробітник, Центральна науково-дослідна лабораторія, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Куликівська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 97 894 87 89. Електронна пошта: grashenkovas@ukr.net

Т. О. Філіпова², М. Я. Головенко¹, М. Б. Галкін²,
А. С. Редер¹, В. Б. Ларіонов¹

Визначення мутагенної активності анксіолітичних лікарських засобів гідазепаму, левани та інноваційної анагетичної сполуки пропоксазепаму в мікропланшетному варіанті тесту Еймса

¹Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, м. Одеса

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Ключові слова: генні мутації, тест Еймса, 1,4-бенздіазепіни (гідазепам, левана, пропоксазепам)

Останніми роками дослідження в області хімічного мутагенезу отримали значний розвиток. З одного боку, це пов'язано з впровадженням великої кількості різних хімічних речовин у всі сфери життєдіяльності людини, що вимагають генетичного контролю, з іншого, науковими досягненнями зі створення та використання нових тест-систем, що дозволяють провести більш повну оцінку як самих мутагенів, так і їхніх метаболітів [1, 2]. Особливе місце в життєдіяльності людини займають такі широко поширені речовини, як лікарські препарати, число яких постійно збільшується. Мутагенність багатьох з них встановлена на різних генетичних об'єктах [3, 4]. У широкому асортименті лікарських засобів особливу увагу приділяють потенційним нейротропним агентам, серед яких чільне місце займають похідні 1,4-бенздіазепіну. Вони підсилюють дію нейротрансмітера гама-аміномасляної кислоти на ГАМКА-рецепторі, викликаючи седативну, снодійну, анксіолітичну, протисудомну, міорелаксуючу та анагетичну дії. Ці властивості роблять бенздіазепіни корисними в лікуванні тривоги, безсоння, збудження, судом, м'язових спазмів і синдрому відміни алкоголю. Зазначимо, що незважаючи на довготривалість використання препаратів похідних 1,4-бенздіазепіну в

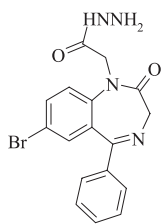
широкій медичній практиці для підтвердження безпечності продовжуються дослідження їхньої токсичності, у тому числі й генотоксичності. Вони знайшли відображення в низці публікацій, на важливіші з них, оглядового характеру, ми посилаємося [5–8].

Клінічна ефективність і безпека гідазепаму та левани підтверджена даними клінічних досліджень, однак, всебічне вивчення медико-біологічних властивостей препаратів триває й сьогодні. Щодо пропоксазепаму, то ця сполука підпадає під вимоги, що стосуються досліджень мутагенності, які є обов'язковою частиною програми доклінічного вивчення безпеки застосування нових фармакологічних засобів і передбачає оцінку здатності до індукції різних типів мутацій у зародкових і соматичних клітинах. У зв'язку з гармонізацією українського та європейського законодавства в галузі регулювання обігу лікарських засобів в Україні зросли вимоги до якості доказової бази з безпеки і, зокрема, генотоксичності лікарських засобів, що відображено в наказі МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів». Керівний документ Європейського Медичного Агентства [9] рекомендує набір методів, що дозволяють реєструвати всі типи генетичних змін. Особливу увагу приділяють методам тестування речовин з використанням мікроорганізмів як тест-об'єктів. Вони набули досить широкого

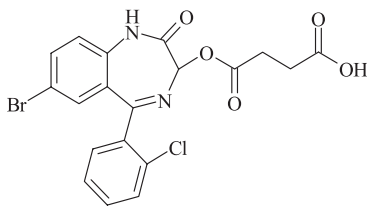
застосування, так як мікроорганізми розмножуються швидко, утримувати їх досить просто й порівняно дешево. Одним з експрес-методів для виявлення мутагенної активності є тест Еймса, що базується на використанні штамів *Salmonella typhimurium*, аутокотрофних за гістидином та здатних під дією мутагенів ревертувати до прототрофності. Ці тест-штами було сконструйовано Еймсом і співавт. [10] спеціально для скринінгових програм досліджень потенційної мутагенної активності факторів навколишнього середовища. Методами генно-інженерних маніпуляцій у геном бактеріальної клітини були введені спеціальні мутації, що забезпечують, з одного боку, максимальну чутливість тест-організмів до дії мутагенних агентів, молекули яких мають різноманітну величину й форму, з іншого – виявлення мутагенних агентів з різними механізмами дії. Так як малігнізація часто пов'язана з пошкодженням ДНК, цей тест також використовується як експресний метод оцінки канцерогенного потенціалу різних хімічних сполук і може бути доповненням стандартного тесту на гризунах.

Мета дослідження – виявити можливе індукування генних мутацій за дії похідних 1,4-бенздіазепіну (гідазепам, левана, пропоксазепам) на штамх *S. typhimurium* TA 98 (мутації за типом зсуву рамки зчитування) і TA 100 (мутації типу заміни пар основ) без та з метаболічною активацією (фракція S9) у мікропланшетному варіанті тесту Еймса (Muta-Chromo Platekit, Biotoxicity, Канада).

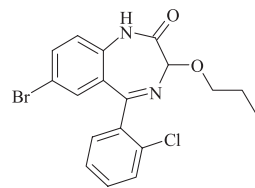
Матеріали та методи. У дослідях було використано відомі препарати: гідазепам (1), левана (2) та інноваційний активний фармацевтичний інгредієнт – пропоксазепам (3).



1



2



3

Гідазепам застосовують як «денний» транквілізатор для лікування дорослих і хворих літнього віку за невротичних, психопатичних астеній, станів, що супроводжуються тривогою, страхом, підвищеною роздратованістю, порушенням сну, а також у разі емоційної лабільності, для гальмування абстинентного синдрому за алкоголізму та підтримуючої терапії під час ремісії за хронічного алкоголізму, у разі логоневрозів, мігрені. Гідазепам можна застосовувати в амбулаторній практиці [11].

Левана є частковим (неповним) селективним агоністом ГАМКА-рецепторного комплексу. Чинить виражену снодійну, анксиолітичну, помірну міорелаксантну та протисудомну дію, посилює ефект снодійних, наркотичних та нейролептичних препаратів, етилового спирту. Особливістю снодійної дії препарату є здатність збільшувати тривалість не тільки повільно хвильового, але й парадоксального сну при незмінній кількості його епізодів, що робить снодійний ефект препарату більш фізіологічним [12].

Пропоксазепаму притаманна анагетична дія за умов поєднаного (соматогенного та нейропатичного) болювого синдрому. Інноваційність сполуки підтверджена відповідним патентом [13], і вона проходить необхідні доклінічні дослідження.

Усі тестовані сполуки представляли собою тверді порошкоподібні речовини, з низьким рівнем розчинення у воді, тому їх розчиняли в твіновій емульсії. У дослідження брали класичні для «мікробного» мутагенезу концентрації: від 10 до 1000 мкг/мл. У контрольному фоновому варіанті в лунку вносили відповідний об'єм розчинника препарату.

У дослідженні було використано мікропланшетний тест-набір Muta-

Chromo Platekit, виробництва фірми Biototoxicity, Канада, який нині є найзатребуванішим в експериментальній практиці тесту Еймса. До його ключових переваг слід віднести використання якісних і сертифікованих штамів, невелику кількість досліджуваної хімічної речовини, а також можливість автоматизації низки стадій у разі проведення великих скринінгових програм. Зручності надає й те, що цей набір містить стандартизовану постмітохondріальну фракцію (S9) печінки щурів, індукованих Aroclor 1254, та НАДФ-Н генеруючу систему.

Експерименти проводили в двох паралельних варіантах – без метаболічної активації та з активацією мікросомною активуючою сумішшю (S9 mix). У варіантах без метаболічної активації реєстрували дію прямих мутагенів – сполук, що індукують мутації за рахунок активності первинної структури досліджуваної речовини. Дію промутагенів – речовин, ефект яких обумовлений утворенням мутагенних метаболітів – реєстрували в варіантах експерименту з метаболічною активацією.

За допомогою тесту Еймса реєструється здатність досліджуваної речовини і/або її метаболітів індукувати зворотні мутації від ауксотрофності до прототрофності за гістидином у індикаторних штамів *S. typhimurium*, які несуть *his* мутації й не здатні синтезувати гістидин. З метою виявлення різних типів мутацій в експерименті використовували наступні штами *S. typhimurium*:

- ТА 98 (*hisD3052*, *rfa*, Δ *uvrB*, + R: *pkM101*), реєструючий мутації за типом зсуву рамки зчитування;
- ТА 100 (*hisG46*, *rfa*, Δ *uvrB*, + R: *pkM101*), несе мутацію в гістидиновому опероні (місенс-мутація *hisG46*), що дає можливість зафіксувати точкові мутації типу заміни пар основ.

У дослідженні використано флюкційний варіант тесту Еймса, який базується на визначенні ревертованих бактерій за їхньою метаболічною активністю [14]. Негативним контролем є кількість спонтанних ревертантних лунок з проб, що не містили досліджувану сполуку. Позитивний контроль базується на використанні стан-

дартних мутагенів: 2-нітрофлуорен для *Salmonella typhimurium* ТА 98 і азид натрію для *Salmonella typhimurium* ТА 100 у тестах без метаболічної активації.

Усі дослідження здійснювали в 3-разових повторях. Результати враховували в разі наявності мутагенних ефектів у всіх варіантах позитивного контролю та нормального фонового рівня. Досліди проводили відповідно до інструкції фірми виробника тест-набору.

Інкубацію тест-штамів *S. typhimurium* з досліджуваними сполуками проводили в 24-лункових планшетах упродовж 100 хв у середовищі з гістидином. У кожному планшеті 1 лунку відводили на контроль стерильності, 2 лунки – на позитивний контроль та по 3 лунки – на негативний контроль і кожен з концентрацій досліджуваних речовин. По закінченню інкубації матеріал з кожного варіанта досліду вносили в 48 лунок 96-лункових планшетів. Культивування проводили впродовж 72 год у середовищі з індикатором рН (бромкрезоловий пурпуровий), яке не містило гістидину, що забезпечувало ріст тільки ревертованих клітин *S. typhimurium*. Оцінка отриманих даних базувалася на підрахунку кількості лунок, в яких спостерігали зміну кольору середовища з пурпурового на жовтий. Негативним результатом (відсутність мутагенної активності) вважається наявність менш ніж 15 ревертантних лунок серед 48 лунок, позитивним (наявність мутагенної активності) – 25 і більше ревертантних лунок серед 48 лунок і пряма залежність ефекту від концентрації досліджуваної сполуки.

Ріст тест-штамів у присутності різних концентрацій пропоксазепаму оцінювали спектрофотометричним методом [15]. Культивування здійснювали в 96-лункових планшетах упродовж 1 доби в середовищі з гістидином, яке забезпечує ріст штамів сальмонел, ауксотрофних за цією амінокислотою. Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі μ Quant, (Bio-Tek, США) за довжини хвилі 540 нм.

Для обробки вихідних даних тесту в таблицю розрахунків файлу Excel

вносили необхідну інформацію (назва тестованого агента, досліджувані концентрації, одиниці виміру, тестовий штам, метаболічна активація тощо). Потім вносили числові показники (кількість позитивних лунок окремо для кожної повторності) з заповнених вище таблиць у відповідні розділи таблиць. Також розраховували стандартне відхилення показника числа позитивних лунок на концентрацію. Воно є стандартним відхиленням середнього значення числа позитивних лунок на тестовану концентрацію, і кратність перевищення щодо нульової лінії, яке визначалося як відношення середнього значення числа позитивних лунок на тестовану концентрацію до нульової лінії негативного контролю (розчинник). У цьому разі нульову лінію обчислювали складанням середнього числа позитивних лунок для негативного контролю та значення стандартного відхилення.

Результати та їх обговорення. Вибір експериментальної токсикологічної моделі відповідав загальним цілям програми дослідження. Як і у випадку аналізу генотоксичності сполук, де виявлялася дія прямих мутагенів (варіант без метаболічної активації сполук) та промутагенів (ефект яких пов'язаний з утворенням мутагенних метаболітів), аналогічну процедуру проведено для контрольного варіанту, тобто розчинника.

Результати, одержані з використанням штаму *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100, наведено в таблиці 1. Стандартними мутагенами для штамів

було використано 2-нітрофлуорен та азид натрію відповідно. Як показують результати експериментів, у контрольному (фоновому) варіанті частота індукованих мутацій не перевищувала стандартного рівня, відповідного генетичним особливостям кожного з референтних штамів [10, 14]. Для обох штамів нами отримано (табл. 1) близькі за значенням дані щодо контролю стерильності, негативного контролю (розчинник) та позитивного контролю (відповідні мутагени).

Структури метаболітів гідазепаму та левани є добре вивченими [16, 17]. Гідазепам в організмі експериментальних тварин утворює деалкільне похідне з наступним перетворенням до 3-гідроксиметаболіту. Каталізують зазначені процеси CYP3A4 та CYP2C19. Левана метаболізує також до 3-гідроксиметаболіту, але за рахунок дії неспецифічних естераз [16, 18]. В обох випадках не реєстрували реакційно здатні метаболіти, тому в цій серії дослідів нами використано тест без активації. Незважаючи на те, що для пропоксазепаму нами [19] також не виявлено реакційно здатних метаболітів, у тесті було використано моделі без та з активацією, що відповідає вимогам регуляторних органів щодо інноваційних агентів.

Дослідження мутагенної активності зразків пропоксазепаму також показало (табл. 2), що в межах чутливості даного методу сполука не є мутагеном прямої або непрямої дії, яка спроможна індукувати мутації типу зсуву рамки читування генетичної інформації.

Вивчення можливого збільшення

Таблиця 1

Контрольні показники для штамів *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100 (кількість жовтих лунок з 48, $M \pm m$, $n = 3$)

Варіант	Контроль стерильності	Негативний контроль, розчинник	Позитивний контроль, мутагени
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 98 (2-нітрофлуорен)			
Без активації	0	$3,0 \pm 0,5$	$32,5 \pm 3,1$
З активацією + S9	0	$2,5 \pm 0,7$	$39,0 \pm 2,8$
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 100 (азид натрію)			
Без активації	0	$3,0 \pm 0,4$	$34,5 \pm 2,0$
З активацією + S9	0	$2,0 \pm 0$	$39,0 \pm 3,7$

Таблиця 2

Активність гідазепаму, левани та пропоксазепаму в тесті Muta-Chromo Platekit на штамі *Salmonella typhimurium* TA 98 (кількість жовтих лунок з 48, $M \pm m$, $n = 3$)

Варіант	Концентрація, мкг/мл				
	10	100	250	500	1000
Гідазепам	$3,3 \pm 0,6$	$5,7 \pm 1,2$	$5,3 \pm 2,1$	$5,7 \pm 1,5$	$7,0 \pm 0$
Левана	$5,0 \pm 1,0$	$5,3 \pm 0,6$	$4,7 \pm 1,2$	$4,0 \pm 0$	$6,0 \pm 1,7$
Пропоксазепам (б/а)	$6,0 \pm 2,0$	$8,3 \pm 2,5$	н.в.	$4,3 \pm 0,5$	н.в.
Пропоксазепам (S9)	$5,0 \pm 2,0$	$4,3 \pm 1,1$	н.в.	0,7	н.в.

Примітка. Тут і в табл. 3: б/а – без активації, S9 – з активацією, н.в. – не визначали.

кількості ревертантних колоній *Salmonella typhimurium* TA 100 гідазепамом і леваною в експериментах без метаболічної активації (табл. 3) виявилось дещо незвичним. У разі гідазепаму в усіх концентраціях і левани в концентраціях 10–250 мкг/мл були зафіксовані нульові результати. Вони теоретично можуть бути наслідком двох причин: наявності в сполук бактерицидної дії або генозахисних властивостей. Більш вірним здається друге припущення, оскільки після 100-хв інкубації в присутності всіх концентрацій гідазепаму та левани не було зареєстровано пригнічення росту *Salmonella typhimurium* TA 100. Можлива генозахисна дія 1,4-бенздіазепінів, зокрема, гідазепаму та левани становить інтерес як з теоретичної, так і з практичної точки зору, але потребує досконалого вивчення.

Отже дані, що наведені у таблиці 3, свідчать про відсутність у гідазепаму та

левани мутагенного впливу на клітини *Salmonella typhimurium* TA 100 у тесті без активації. Пропоксазепам також не чинить мутагенного впливу на клітини *Salmonella typhimurium* TA 100 ні в тесті з активацією, ані в тесті без активації. Негативний результат у тесті з активацією свідчить про відсутність мутагенної активності також у метаболітів досліджуваної сполуки. Враховуючи той факт, що в деяких експериментах (табл. 3) отримано дещо незвичайні результати, тобто показники були нижчими, ніж у контролі (розчиннику), нами з метою встановлення можливого токсичного впливу похідних 1,4-бенздіазепіну на досліджувані штами в додаткових дослідях на прикладі пропоксазепаму визначено ріст *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100 у присутності вивчених у тестах на мутагенність концентрацій. Культивування здійснювали впродовж 24 год у

Таблиця 3

Активність гідазепаму, левани та пропоксазепаму в тесті Muta-Chromo Platekit на *Salmonella typhimurium* TA 100 (кількість жовтих лунок з 48, $M \pm m$, $n = 3$)

Варіант	Концентрація, мкг/мл				
	10	100	250	500	1000
Гідазепам	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Левана	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	$1,3 \pm 0,3$	$6,0 \pm 1,1$
Пропоксазепам (б/а)	$4,0 \pm 0,7$	$7,0 \pm 1,1$	н.в.	$6,3 \pm 1,2$	н.в.
Пропоксазепам (S9)	$3,7 \pm 0,6$	$6,0 \pm 1,4$	н.в.	$2,7 \pm 0,5$	н.в.

Таблиця 4

Ріст тест-штамів *Salmonella typhimurium* під впливом пропоксазепаму (OG_{540} , $M \pm m$, $n = 3$)

Штам <i>Salmonella typhimurium</i>	Контроль	Концентрація, мкг/мл		
		10	100	500
TA 98	$0,638 \pm 0,075$	$0,621 \pm 0,066$	$0,632 \pm 0,063$	$0,642 \pm 0,058$
TA 100	$0,376 \pm 0,047$	$0,384 \pm 0,038$	$0,370 \pm 0,041$	$0,364 \pm 0,044$

рідкому поживному середовищі. Ріст штамів *Salmonella typhimurium* оцінювали спектрофотометрично за показником оптичної густини (OD_{540} нм). Результати цього дослідження наведено в таблиці 4, і вони свідчать про відсутність бактеріцидної активності в пропоксазепаму.

Аналіз отриманих результатів показав, що досліджувані речовини не виявили здатності індукувати генні мутації у використаних тест-організмів. Система метаболічної активації також не була ефективною, тобто, тестовані 1,4-бенздіазепіни не є ні «прямими», ні «непрямими» мутагенами для штамів тесту Еймса. Незначне перевищення середнього числа ревертантів у дослідах щодо контролю (табл. 1–3) є статистично недостовірними. Чутливість обох тест-штамів щодо досліджуваних речовин виявилася приблизно однаковою, тобто перевищення контрольних значень в обох варіантах дослі-

дів практично не мінялось, що свідчить про однозначність дії цих сполук. Загальним для всього експерименту також є відсутність перевищення числа ревертантів у дослідних варіантах за максимальних концентрацій. Цей феномен характерний для речовин з деякими бактеріцидними або бактеріостатичними властивостями. Додаткове тестування цих сполук у різних концентраціях на ріст штамів *Salmonella typhimurium* показало відсутність такої дії.

Висновок

Таким чином, дані, отримані в ході проведення мікропланшетного варіанту тесту Еймса (Muta-Chromo Platekit) на штамів *Salmonella typhimurium* TA 98 і TA 100, свідчать про відсутність мутагенної активності в похідних 1,4-бенздіазепінів у вивчених концентраціях. У зв'язку з цим, наявність у них канцерогенних властивостей, пов'язаних з генотоксичністю, є також малоімовірною.

1. Updated recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of the performance of new or improved genotoxicity tests / D. Kirklanda, P. Kasperb, H. Martusc [et al.] // Mutation Research. – 2016. – V. 795. – P. 7–30.
2. Liu D. Q. Recent Advances in Trace Analysis of Pharmaceutical Genotoxic Impurities / D. Q. Liu, M. Sun, A. S. Kord // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2010. – V. 51 (5). – P. 999–1014.
3. GADD45a-GFP Green Screen HC assay results for the ECVAM recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of new genotoxicity tests / L. Birrell, P. Cahill, C. Hughes [et al.] // Mutat. – 2010. – V. 695. – P. 87–95.
4. Metabolism, Genotoxicity, and Carcinogenicity of Comfrey / Nan Mei, Lei Guo, Peter P. Fu [et al.] Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. – 2010. – V. 13 (7–8). – P. 509–526.
5. Absence of liver DNA fragmentation in rats treated with high oral doses of 32 benzodiazepine drugs / P. Carlo, R. Finollo, A. Ledda, G. Brambilla // Fundam Appl Toxicol. – 1989. – V. 12. – P. 34–41.
6. Lafi A. The effects of benzodiazepines upon the fidelity of mitotic cell division in cultured Chinese hamster cells / A. Lafi, E. M. Parry, J. M. Parry // Mutat Res. – 1987. – V. 189. – P. 319–32.
7. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, some pharmaceutical drugs. – V. 66. – Lyon, France : IARC. 1996.
8. Brambilla G. Genotoxicity and carcinogenicity studies of benzodiazepines / G. Brambilla, R. Carrozzino, A. Martelli // Pharmacological Research. – 2007. – V. 56. – P. 443–458.
9. Guidance for Industry. S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. – 2012. – ICH. – 31 p.
10. Bruce A. N. Method for Detecting Carcinogens and Mutagens with the Salmonella mammalian-microsome mutagenicity test / A. Bruce N., McCann J., Yamasaki E. // Mutat. res. – 1975. – P. 347–364.
11. Андронати С. А. Гидазепам / С. А. Андронати, Т. А. Воронина, Н. Я. Головенко. – Киев : Наукова думка, 1992. – 196 с.
12. Вплив циназепаму на структуру циклу снування-неснування у щурів / Л. С. Годлевський, Т. Л. Карасьова, Л. В. Попова [та ін.] // Досягнення біології та медицини. – 2005. – № 2 (6). – С. 22–26.
13. Застосування 7-бром-5-(о-хлорфеніл)-3-пропоксид-1,2-дигідрод-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону для гальмування нейропатичного болю та судом різної етіології / А. С. Редер, С. А. Андронати, М. Я. Головенко [та ін.] // Патент України на винахід № 115205. 2017 Вер 25.
14. Curieux F. Study of the genotoxic activity of five chlorinated propanones using the SOS chromotest, the Ames-fluctuation test and the new micronucleus test / F. Curieux, D. Marzin, F. Erb // Mutation Res. – 1994. – V. 341. – P. 1–15.
15. Physical Methods for Microorganisms Detection; Ed.: Wilfred H. Nelson. – CRC Press Inc, 1991. – 155 p.

-
16. Головенко Н. Я. Синтез меченых радиоактивными изотопами производных 1,4-бенздиазепина и установление структуры их метаболитов / Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г., Якубовская Л. Н. // Украинский химический журнал. – 1999. – № 65 (9). – С. 34–44.
17. Метаболізм гідазепаму в організмі щурів / М. Я. Головенко, К. В. Преподобна, О. В. Мазепа, Н. В. Шнейдер // Клінічна фармація. – 2007. – Т. 11, № 3. – С. 6–10.
18. Головенко М. Я. Кінетика гідролізу карбоксиестеразами снодійного засобу «Левана» в організмі мишей / М. Я. Головенко, В. Б. Ларіонов // Український біохімічний журнал. – 2014. – Т. 86, № 4. – С. 150–157.

Т. О. Філіпова, М. Я. Головенко, М. Б. Галкін, А. С. Редер, В. Б. Ларіонов
Визначення мутагенної активності анксиолітичних лікарських засобів
гідазепаму, левани та інноваційної анальгетичної сполуки пропоксазепаму в
мікропланшетному варіанті тесту Еймса

Проведено дослідження впливу похідних 1,4-бенздіазепіну (гідазепам, левана, пропоксазепам) у концентраціях 10, 100, 250, 500 та 1000 мкг/мл на здатність індукувати генні мутації в тесті Еймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 (мутації за типом зсуву рамки читування) і TA 100 (точкові мутації типу заміни пар основ). Експерименти проводили без та з використанням метаболічної активації. У межах чутливості використаного методу за усіх використаних концентрацій сполуки не впливали на ріст обох досліджуваних штамів *Salmonella typhimurium*.

Ключові слова: генні мутації, тест Еймса, 1,4-бенздіазепіни (гідазепам, левана, пропоксазепам)

Т. О. Филиппова, Н. Я. Головенко, Н. Б. Галкин, А. С. Редер, В. Б. Ларионов
Определение мутагенной активности анксиолитических лекарственных
средств гидазепама, леваны и инновационного анальгетического соединения
пропоксазепама в микропланшетном варианте теста Эймса

Проведено исследования влияния производных 1,4-бенздиазепина (гидазепам, левана, пропоксазепам) в концентрациях 10, 100, 250, 500 и 1000 мкг/мл на способность индуцировать генные мутации в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 (сдвиг рамки считывания) и TA 100 (точечные мутации типа замены пар оснований). Эксперименты проводили без и с использованием метаболической активации. В границах чувствительности использованного метода во всех концентрациях соединения не влияли на рост обоих исследованных штаммов *Salmonella typhimurium*.

Ключевые слова: генные мутации, тест Эймса, 1,4-бенздиазепины (гидазепам, левана, пропоксазепам)

Filipova T. O., Golovenko M. Ya., Galkin M. B., Reder A. S., Larionov V. B.
Determination of the mutagenic activity for anxyolythics gidazepam, levana and
innovative analgesic propoxazepam in microplate Ames test

1,4-benzodiazepine derivatives (gidazepam, levana and propoxazepam) at concentrations 10, 100, 250, 500 and 1000 µg/ml were tested on their ability to induce gene mutations in the Ames test on *Salmonella typhimurium* strains TA 98 (frame shift) and TA 100 (base pair substitution point mutations). Experiments were performed both without and with the metabolic activation. Within the limits of method sensitivity the compounds at all concentrations did not affect the growth of both studied *Salmonella typhimurium* strains.

Key words: gene mutations, Ames test, 1,4-benzodiazepines (gidazepam, levana, propoxazepam)

Надійшла: 2 жовтня 2017 р.

Контактна особа: Ларіонов Віталій Борисович, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, відділ фізико-хімічної фармакології, Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, буд. 86, Люстдорфська дор., м. Одеса, 65080. Тел.: + 38 0 48 765 94 02.
Електронна пошта: vitaliy.larionov@gmail.com

О. В. Тригубчак

Вивчення впливу кількостей допоміжних
речовин на фармако-технологічні показники
шипучих таблеток

ПАТ «Фармак», м. Київ

Ключові слова: кількість допоміжних
речовин, фармако-технологічні показники,
шипучі таблетки, регресійний аналіз

Шипучі таблетки мають специфічні характеристики в разі розчинення у воді виділяти бульбашки газу в результаті хімічної реакції. Це сприяє легкому застосуванню ліків, швидкій адсорбції діючих речовин в організм та ефективному засвоєнню препарату.

Для отримання шипучих таблеток використовують методи нашарування [1] та прямого пресування [2]. Технологічні особливості шипучих таблеток, їхні переваги та недоліки описані в огляді Kagan Ірсі та співавт. [3]. З метою надання лікарській формі бажаних властивостей використовують допоміжні речовини [4]. Для виготовлення шипучих таблеток використовують від 2 до 22 допоміжних речовин. Обов'язковим компонентом є газотворююча суміш, яка найчастіше складається з сухих органічних кислот та карбонатів і/чи гідрокарбонатів лужних і лужноземельних металів. Також використо-

вують цукри, полімери, ароматизатори, коригенти смаку, барвники та лубриканти [5].

За розробки шипучих таблеток ацетилсаліцилової кислоти (АСК), парацетамолу й аскорбінової кислоти в попередніх дослідженнях визначили «лідерів» допоміжних речовин. Далі необхідно вивчити їхні кількісні характеристики, оскільки в разі зміни вмісту допоміжних речовин у складі будуть змінюватися фармако-технологічні властивості лікарської форми.

Мета дослідження – вивчити вплив кількостей допоміжних речовин та їхнього співвідношення на фармако-технологічні показники шипучих таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти.

Матеріали та методи. Для дослідження кількісних характеристик і співвідношення між допоміжними речовинами вивчали 4 фактори на 5 рівнях. Дані наведені в таблиці 1.

Для отримання таблеток з середньою масою 1,5 г додатково вводили 1 % натрію стеаринфумарату та необхідну

Таблиця 1

Кількісні фактори та їхні рівні за розробки шипучих таблеток

Фактор	Рівень фактора				
	нижня зіркова точка «-α»	нижній рівень «-»	основний рівень «0»	верхній рівень «+»	верхня зіркова точка «+α»
x ₁ – кислота лимонна (безводна), г	0,105	0,12	0,135	0,15	0,165
x ₂ – натрію гідрокарбонат, г	0,135	0,1575	0,18	0,2025	0,225
x ₃ – кросповідон XL-10, г	0,03	0,0375	0,045	0,0525	0,06
x ₄ – натрію стеарилфумарат (Pruv®), г	0,0075	0,015	0,0225	0,03	0,0375

кількість лактози безводної (Super Tab® 22AN). Розрахунок здійснювали на 30 таблетках.

Матрицю планування експерименту [6] наведено в таблиці 2. Отримані порошкові суміші та шипучі таблетки випробовували згідно з фармакопейними вимогами [7]. У дослідях використали сучасне обладнання для визначення сипучості порошоків (ERWEKA GT, Німеччина), насипної густини (ERWEKA SVM 202, Німеччина), таблетпрес (Korsh XL-100, Німеччина), однорідності маси таблеток (Mettler Toledo AB54-S, Швейцарія), стійкості до роздавлювання (ERWEKA TBH-525 WTO, Німеччина), стираності (ERWEKA TAR 200, Німеччина).

Результати досліджень піддавали регресійному аналізу, використовуючи Excel. Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та фармако-технологічними властивостями порошоків і шипучих таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти виражали рівнянням регресії другого порядку. У цьому разі табличне значення F-критерію ($F_{0,05;15;3}$) становить 8,7. Якщо $F_{\text{експ.}}$ має менше значення, то отримана математична модель адекватно описує досліджуваний показник. У нижченаведених рівняннях регресії наведено лише значущі коефіцієнти.

Результати та їх обговорення. Результати дослідження порошкових сумішей і шипучих таблеток надано в таблиці 2.

Для насипної густини $F_{\text{експ.}} = 167,37$, тому робимо висновок, що досліджувані фактори не впливають на величину цього показника.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та густиною після усадки описується наступним рівнянням регресії ($F_{\text{експ.}} = 0,71$):

$$y_2 = 0,9658 + 0,0076 x_2 + 0,0085 x_4.$$

Аналіз рівняння регресії показує, що введення досліджуваних факторів на основному рівні супроводжується отриманням маси для таблетування з густиною після усадки 0,9658 г/мл. У разі збільшення кількостей натрію гідрокарбонату та натрію стеаринфумарату це значення покращується. Вплив

інших факторів проявляється незначуще.

Для індексу Карра $F_{\text{експ.}} = 1,21$, проте отримане рівняння регресії має вигляд: $y_3 = 23,57$. Це свідчить, що суміш порошоків мала погану сипучість і не залежала від зміни кількостей досліджуваних допоміжних речовин.

Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та текучістю описується наступним рівнянням регресії ($F_{\text{експ.}} = 2,74$):

$$y_4 = 16,7 - 0,8 x_4 + 0,7 x_1 x_2.$$

Збільшення кількості натрію стеаринфумарату веде за собою покращання цього показника. Спостерігається взаємодія газотворюючої суміші, що погіршує текучість таблетної маси.

Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та кутом природного укусу описується наступним рівнянням регресії ($F_{\text{експ.}} = 1,43$):

$$y_5 = 36,45 + 0,50 x_4^2.$$

Як показує аналіз рівняння, найбільший вплив на кут природного укусу має концентрація натрію стеарилфумарату, введення якої на рівні нижньої зіркової точки зменшує кут природного укусу таблетної маси.

З отриманої таблетної маси пресували плоскоциліндричні таблетки з рискою і фаскою діаметром 17 мм. Усі серії пресувалися добре й оцінені в середньому на 4,5 бала ($F_{\text{експ.}} = 0,49$). Зміна кількостей досліджуваних речовин статистично не впливала на величину процесу пресування.

Отримані таблетки були цілими, блискучими, зустрічалися поодинокі нерівності поверхні в результаті прилипання до прес-інструменту. Достовірною оцінкою зовнішнього вигляду ($F_{\text{експ.}} = 0,20$) є 4,5 бала, що не змінюється залежно від доданої кількості досліджуваних допоміжних речовин.

Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та однорідністю маси шипучих таблеток АСК, парацетамолу і аскорбінової кислоти описується рівнянням регресії ($F_{\text{експ.}} = 5,14$):

$$y_8 = 1,39 + 0,10 x_1 + 0,11 x_4 + 0,13 x_1 x_4 - 0,13 x_2 x_3 - 0,12 x_1^2.$$

Матриця планування й результати випробувань порошкових сумішей і шипучих таблеток

Серія	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	y ₁	y ₂	y ₃	y ₄	y ₅	y ₆	y ₇	y ₈	y ₉	y ₁₀	y ₁₁
1	+	+	+	+	0,7741	0,9978	22,41	13,8	36,9	5	4	1,27	24,00	2,89	48
2	-	+	+	+	0,7127	0,9761	26,98	17,7	37,3	5	4	0,81	31,67	7,64	29
3	+	-	+	+	0,7500	0,9740	23,00	17,1	35,7	5	4	2,06	33,67	8,34	30
4	-	-	+	+	0,7242	0,9868	26,61	16,8	36,6	4	4	0,91	32,33	6,60	31
5	+	+	-	+	0,7877	1,0205	22,81	17,4	37,4	4	4	2,09	40,67	5,82	28
6	-	+	-	+	0,7576	0,9933	23,73	15,0	39,1	5	4	1,44	32,67	4,96	43
7	+	-	-	+	0,7627	0,9890	22,88	15,4	39,0	5	4	1,39	41,00	3,95	49
8	-	-	-	+	0,7479	0,9804	23,71	17,1	37,4	5	4	1,28	36,33	4,60	31
9	+	+	+	-	0,7500	0,9825	23,67	20,6	37,2	5	5	1,32	28,00	8,23	42
10	-	+	+	-	0,7377	0,9740	24,26	16,8	35,3	5	5	0,83	20,67	9,47	30
11	+	-	+	-	0,7258	0,9719	25,32	17,9	36,9	4	5	0,85	12,33	9,00	45
12	-	-	+	-	0,7258	0,9534	23,87	20,3	38,4	5	5	1,15	27,67	8,89	27
13	+	+	-	-	0,7500	0,9890	24,17	18,8	37,0	5	4	1,11	22,00	9,35	33
14	-	+	-	-	0,7274	0,9741	25,32	16,6	37,6	4	4	1,31	23,33	8,33	35
15	+	-	-	-	0,7258	0,9414	22,90	17,0	38,3	4	5	1,12	23,00	5,63	24
16	-	-	-	-	0,7500	0,9657	22,33	20,2	34,5	4	4	0,75	34,67	4,74	26
17	+α	0	0	0	0,7627	0,9912	23,05	19,4	35,0	5	5	0,81	33,67	3,63	35
18	-α	0	0	0	0,7724	0,9739	20,69	15,9	35,7	5	4	1,01	37,33	3,88	28
19	0	+α	0	0	0,7274	0,9804	25,81	16,7	37,5	5	4	0,88	31,00	3,85	37
20	0	-α	0	0	0,7290	0,9617	24,19	16,7	37,7	5	4	1,51	34,67	2,91	34
21	0	0	+α	0	0,7438	0,9574	22,31	16,8	36,6	5	4	1,50	29,67	4,29	35
22	0	0	-α	0	0,7627	0,9890	22,88	16,8	36,5	5	4	1,41	49,00	2,64	27
23	0	0	0	+α	0,7377	0,9783	24,59	18,1	38,7	5	4	1,25	29,67	5,41	22
24	0	0	0	-α	0,7159	0,9596	25,40	18,2	37,8	5	5	1,34	25,00	4,98	25
25	0	0	0	0	0,7377	0,9677	23,77	16,5	35,6	4	5	1,40	32,67	3,67	24
26	0	0	0	0	0,7393	0,9596	22,95	17,7	37,2	5	4	1,24	44,33	2,91	17
27	0	0	0	0	0,7377	0,9574	22,95	16,4	36,5	5	5	3,51	49,00	1,12	20
28	0	0	0	0	0,7377	0,9783	24,59	16,0	36,5	4	4	2,42	52,33	0,32	39

Примітка. y₁ – насипна густина, г/мл; y₂ – густина після усадки, г/мл; y₃ – індекс Карра, %; y₄ – текучість, с/100 г; y₅ – кут укошу, °; y₆ – процес таблетування, бал; y₇ – зовнішній вигляд, бал; y₈ – однорідність маси, %; y₉ – стійкість до роздавлювання, Н; y₁₀ – стираність, %; y₁₁ – розпадання, с.

Серед вивчених кількісних фармацевтичних факторів найсуттєвіше на даний показник якості впливає взаємодія кількостей натрію гідрокарбонату й кросповідону XL-10, що зменшує відносне стандартне відхилення. Відмічається також суттєва взаємодія кількостей лимонної кислоти та натрію стеарилфумарату, яка супроводжується погіршенням однорідності маси шипучих таблеток. За введення кислоти лимонної в кількості 0,15 г

на одну таблетку даний показник погіршується, а збільшення цього фактора до рівня верхньої зіркової точки покращує однорідність маси. Зазначимо, що на даному етапі досліджень первинні результати однорідності таблеток не перевищували ± 2 % у жодній серії.

Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та стійкістю шипучих таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти до роздавлювання

описується наступним рівнянням регресії ($F_{\text{експ.}} = 4,12$):

$$y_9 = 44,25 - 2,63 x_2 - 3,38 x_3 + 4,21 x_4 + 2,44 x_1 x_2 - 1,98 x_2^2 - 3,98 x_4^2.$$

Як видно з рівняння регресії, за вивчення всіх факторів на основному рівні таблетки характеризуються міцністю 44,25 Н, що нижче фармакопейних вимог (50 Н) [7]. Стійкість таблеток до роздавлювання в найбільшій мірі залежить від рівня фактора x_4 , причому додавання натрію стеарилфумарату в кількості 0,03 г на одну таблетку призводить до суттєвого покращання досліджуваного показника, а подальше збільшення цього фактора веде до зниження міцності таблеток. Зі зменшенням кількості кросповідон XL-10 до 2,5 % у складі шипучих таблеток стійкість до роздавлювання підвищується. У разі введення натрію гідрокарбонату в межах від 0,135 г до 0,18 г на одну таблетку відмічається покращання даного показника. Взаємодія газоутворюючої суміші призводить до збільшення стійкості таблеток до роздавлювання. Для оцінки впливу факторних взаємодій будуюмо графічну однофакторну залежність (рис. 1).

Криві лінії залежностей стійкості таблеток до роздавлювання від кількості натрію стеарилфумарату мають вигляд парабол. Зі збільшенням фактора x_4 міцність таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти поступово зростає й досягає максимуму за

$x_4 = + 0,5$. При подальшому додаванні натрію стеарилфумарату досліджуваний показник поступово знижується. Найміцніші таблетки отримали за умов $x_1 = -\alpha$, $x_2 = -\alpha$, $x_3 = +\alpha$ (лінія 3), що практично збігається з результатами в разі вивчення цих факторів у центрі експерименту (лінія 1).

Визначальним фактором для вибору оптимальної кількості допоміжних речовин був показник стираності. Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та стираністю шипучих таблеток описується наступним рівнянням регресії ($F_{\text{експ.}} = 1,15$):

$$y_{10} = 2,00 + 1,27 x_4^2.$$

Це свідчить, що за додавання до складу таблетки АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти 0,0075 г натрію стеарилфумарату стираність суттєво знижується й знаходиться в допустимих межах відповідно до вимог Державної фармакопеї України [7].

Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та розпаданню шипучих таблеток описується рівнянням регресії ($F_{\text{експ.}} = 1,06$):

$$y_{11} = 23 + 4 x_2^2.$$

Аналіз рівняння регресії показав, що визначальний вплив на розпадання таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти має фактор x_2 . У разі додавання натрію гідрокарбонату в кількості 0,135 г на одну таблетку час розпадання суттєво зменшується, а введення 0,225 г супроводжується збільшенням

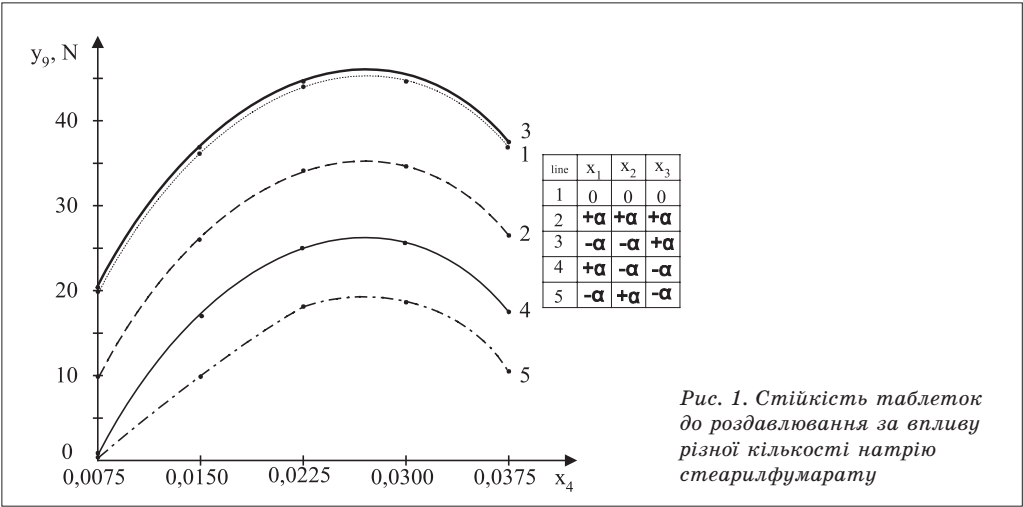


Рис. 1. Стійкість таблеток до роздавлювання за впливу різної кількості натрію стеарилфумарату

часу розпадання, хоча всі таблетки розпадалися до 1 хв.

Проведені дослідження з вивчення впливу кількісних факторів на фармако-технологічні властивості гранул і таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти показали, що в указаних серіях процес пресування та зовнішній вигляд були оцінені на рівні 4–5 балів, однорідність маси таблеток знаходилась в інтервалі від $\pm 0,81\%$ до $\pm 3,51\%$, час розпадання складав менше 1 хв. У всіх серіях дослідів таблетки характеризувалися поганою сипучістю та невисокою міцністю, що коригується зміною кількості досліджуваних факторів.

Наступним етапом в аналізі рівнянь регресії є побудова ліній рівного виходу в площині перетину двох факторів за постійного значення інших факторів. Це дає можливість візуально визначити компромісне рішення завдання оптимізації. На рисунку 2 побудовано контурні криві для факторів x_3 і x_4 . Фактори x_1 і x_2 стабілізовані на основному рівні.

На основі контурного графіка можна визначити основні фармако-технологічні характеристики досліджуваних шипучих таблеток за будь-якого значення рівнів факторів. Враховуючи фармакопейні вимоги до результатів випробування таблеток, за кривими лініями шукали оптимальне співвідношення факторів x_3 і x_4 . Для визначення кількостей кросповідон XL-10 і натрію стеарилфумарату найзначущими параметрами оптимізації вважали значення стій-

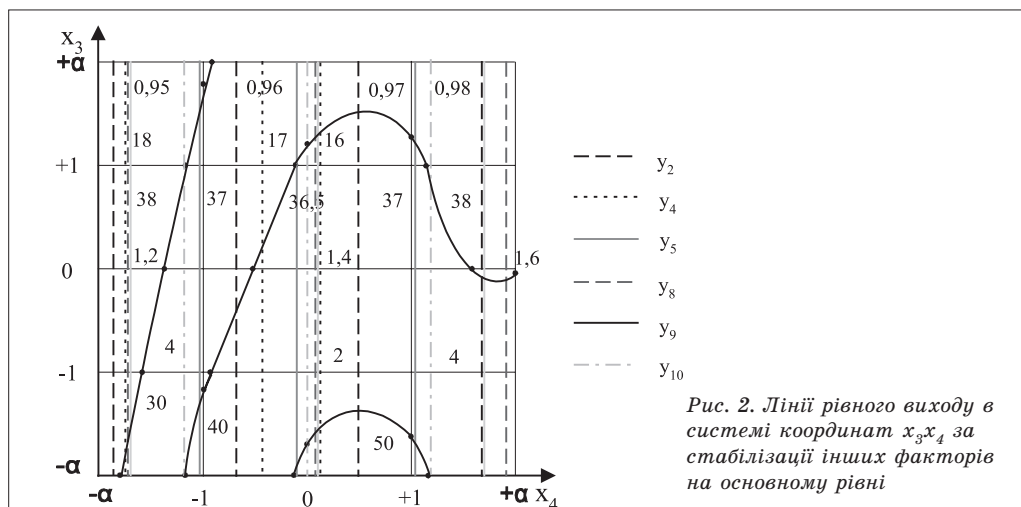
кості до роздавлювання (y_9) і стиранисть (y_{10}). Встановлено, що за стабілізації x_3 на рівні нижньої зіркової точки забезпечується найвища міцність таблеток (y_8, y_9), а фактор x_4 доцільно зосередити на основному рівні для забезпечення мінімальної стиранисті (y_{10}), вищої стійкості до роздавлювання (y_9) та кращої сипучості (y_2, y_4, y_5).

Для пошуку оптимального складу допоміжних речовин аналізу необхідно перетворити рівняння регресії до канонічного виразу. За умови, що $b_{ii} > 0$ і $|b_i| - \sum |b_{ij}| > 2|b_{ii}|$, замість x_3 вводимо в модель -2 , бо b_3 – негативна величина, коли $x_4 = 0$. Будуємо нові моделі.

Оскільки кількості кислоти лимонної (безводної) та натрію гідрокарбонату не впливають на кут природного укосу таблетної маси та стиранисть таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти, лінії рівного виходу в системі координат $x_1 x_2$ будуємо на основі рівнянь насипної густини, текучості, однорідності маси, стійкості до роздавлювання та розпадання (рис. 3).

Як показує аналіз рисунку 3, оптимальні показники шипучих таблеток отримуємо за умов: $x_1 = -\alpha$, $x_2 = -1,2$.

На основі проведеного експерименту було вибрано кількості досліджуваних допоміжних речовин, що забезпечують кращі фармако-технологічні показники таблетної маси та шипучих таблеток: 0,105 г кислоти лимонної (безводної), 0,153 г натрію гідрокарбонату, 0,03 г кросповідону XL-10 та 0,0375 г натрію стеарилфумарату (Pruv®).



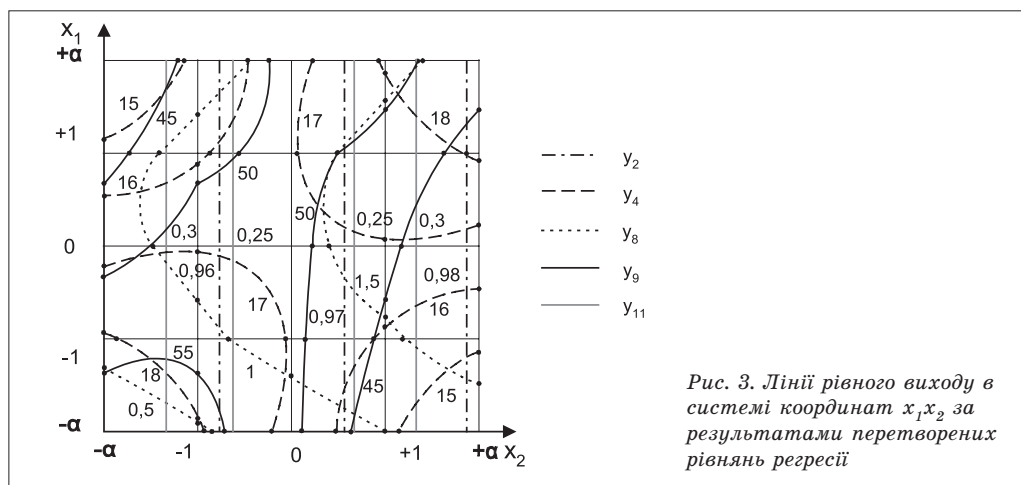


Рис. 3. Лінії рівного виходу в системі координат x_1, x_2 за результатами перетворених рівнянь регресії

За змішування запропонованих інгредієнтів отримали наступні фармако-технологічні показники маси для таблетування: насипна густина 0,7258 г/мл, густина після усадки 0,95668 г/мл, індекс Карра 24,13 %, текучість 18,4 с/100 г, кут природного укосу 36,45°. Цю суміш порошоків піддавали прямому пресуванню. Таблетна маса пресувалася добре, таблетки мали незначні дефекти за рахунок прилипання до деталей прес-інструменту, їхній зовнішній вигляд оцінено на 4 бали. Отримані таблетки мали однорідність маси $\pm 0,41$ %, стійкість до роздавлювання 57,17 Н, стираність 2 %, розпадалися впродовж 28 с. Розчин мав зависі й неприємний гіркий смак.

Висновки

1. У результаті проведених досліджень вивчено вплив кількостей допоміжних речовин й їхнє співвідношення на фармако-технологічні показники порошкових сумішей і шипучих таблеток АСК, парацетамолу й аскорбінової кислоти.
2. Вибрано кількості досліджуваних допоміжних речовин, що забезпечують фармако-технологічні показники таблетної маси та шипучих таблеток відповідно до сучасних фармакопейних вимог.
3. Отримані результати вказують на необхідність подальших досліджень з метою покращання органолептичних характеристик шипучих таблеток.

1. Abolfazl Aslani. Formulation, characterization and physicochemical evaluation of amoxicillin effervescent tablets / Abolfazl Aslani, Tahereh Sharifian // Advanced Biomedical Research. – 2014. – V. 3. – P. 209–217.
2. Abolfazl Aslani. Formulation, Characterization and Physicochemical Evaluation of Ranitidine Effervescent Tablets / Abolfazl Aslani, Hajar Jahangiri // Advanced Pharmaceutical Bulletin. – 2013. – V. 3 (2). – P. 315–322.
3. Effervescent tablets: a safe and practical delivery system for drug administration / Kagan Ipci, Tugba Öktemer, Leman Birdane [et al.] // ENT Updates. – 2016. – V. 6 (1). – P. 46–50.
4. The excipients used in the non-coated tablets – a review / A. Polski, K. Iwaniak, M. Naleśniak [et al.] // Medicina Internacia RLVUO. – 2014. – V. 26-a, № 1 (102). – P. 10–18.
5. Тригубчак О. В. Маркетингові дослідження ринку шипучих таблеток / О. В. Тригубчак // Здобутки експериментальної і клінічної медицини. – 2014. – № 2 (21). – С. 22–25.
6. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації / Т. А. Грошовий, В. П. Марценюк, Л. І. Кучеренко [та ін.]. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2008. – 368 с.
7. Державна Фармакопея України: у 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016.

О. В. Тригубчак

Вивчення впливу кількостей допоміжних речовин на фармако-технологічні показники шипучих таблеток

За розробки шипучих таблеток необхідно вивчити кількісні характеристики допоміжних речовин, оскільки в разі зміни їхнього вмісту в складі будуть змінюватися фармако-технологічні властивості лікарської форми.

Мета дослідження – вивчити вплив кількостей допоміжних речовин та їхнього співвідношення на фармако-технологічні показники шипучих таблеток ацетилсаліцилової кислоти, парацетамолу й аскорбінової кислоти.

Проведені дослідження дозволили побудувати регресійні рівняння другого порядку, що відображають взаємозв'язок між вивченими кількостями 4 допоміжних речовин і фармако-технологічними властивостями порошків і шипучих таблеток. Для візуального визначення компромісного рішення завдання оптимізації побудовано лінії рівного виходу в площині перетину двох факторів. На основі проведеного експерименту було вибрано кількості досліджуваних допоміжних речовин, що забезпечують кращі фармако-технологічні показники таблетної маси та шипучих таблеток.

Ключові слова: кількість допоміжних речовин, фармако-технологічні показники, шипучі таблетки, регресійний аналіз

О. В. Тригубчак

Изучение влияния количеств вспомогательных веществ на фармако-технологические показатели шипучих таблеток

При разработке шипучих таблеток необходимо изучить количественные характеристики вспомогательных веществ, поскольку при изменении их содержания в составе будут меняться фармако-технологические свойства лекарственной формы.

Цель исследования – изучить влияние количеств вспомогательных веществ и их соотношения на фармако-технологические показатели шипучих таблеток ацетилсалициловой кислоты, парацетамол и аскорбиновой кислоты.

Проведенные исследования позволили построить регрессионные уравнения второго порядка, отражающие взаимосвязь между изученными количествами 4 вспомогательных веществ и фармако-технологическими свойствами порошков и шипучих таблеток. Для визуального определения компромиссного решения задачи оптимизации построены линии равного выхода в плоскости пересечения двух факторов. На основе проведенного эксперимента были выбраны количества исследуемых вспомогательных веществ, обеспечивающие лучшие фармако-технологические показатели таблеточной массы и шипучих таблеток.

Ключевые слова: количество вспомогательных веществ, фармако-технологические показатели, шипучие таблетки, регрессионный анализ

O. V. Tryhubchak

Study of excipients quantities influence on the pharmaco-technological parameters of the effervescent tablets

Quantitative characteristics of excipients should be studied in the development of effervescent tablets, since the pharmaco-technological properties of the pharmaceutical form will change as a result of changes in their content.

The aim of the study was to investigate the influence of the excipients quantities and their correlation with the pharmaco-technological parameters of effervescent tablets of acetylsalicylic acid, paracetamol and ascorbic acid.

The conducted studies allowed to construct regression equations of the second order, which reflect the relationship between the studied quantities of 4 excipients and the pharmaco-technological properties of powders and effervescent tablets. For the visual determination of the compromise solution of the optimization problem, lines of equal output in the plane of the intersection of two factors are constructed. On the basis of the conducted experiment, the amount of investigated excipients was selected, providing the best pharmaco-technological parameters of tablet mass and effervescent tablets.

Key words: quantity of excipients, pharmaco-technological parameters, effervescent tablets, regression analysis

Надійшла: 20 грудня 2017 р.

Контактна особа: Тригубчак Оксана Володимирівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, ПАТ «Фармак», буд. 74, вул. Кирилівська, м. Київ. Тел.: + 38 0 97 766 68 02.
Електронна пошта: o.tryhubchak@farmak.ua