

---

---

## СПІВЗАСНОВНИКИ

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

---

# ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

№ 4–5(35)/2013

Виходить 1 раз на 2 місяці

---

## ЗМІСТ

---

### ОГЛЯДИ

*Кривов'яз О. В.* Фармакотерапія глаукоми: сучасний стан проблеми.....3

### СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

*Беленічев І. Ф., Павлов С. В., Кучеренко Л. І., Мазур І. А.* Енерготропний механізм церебропротективної дії нового оригінального препарату «Лізиній» за умов моделювання гострого порушення мозкового кровообігу..... 14

*Ларіонов В. Б., Федорова О. А., Головенко М. Я.* Аналіз проникності гематоенцефалічного бар'єра для нижчих аліфатичних спиртів на основі фармакодинамічних і нейротоксичних ефектів ..... 19

### У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

*Бобирьов В. М., Дев'яткіна Н. М., Дев'яткін О. Є.* Вивчення лікувальної дії нового комбінованого гелю «Ротрин-Дента» на моделі травматичного стоматиту в щурів ..... 31

*Бойчук І. В., Пясковська О. М., Мельников О. Р., Колесник Д. Л., Соляник Г. І.* Експериментальне дослідження протипухлинної активності оксирезвератролу ..... 37

*Бухтіярова І. П.* Експериментальне дослідження антиоксидантних властивостей ралейкіну за умов дитизонового діабету в кролів..... 43

*Дронова М. Л., Коробкова К. С., Вринчану Н. О., Токовенко І. П.* Чутливість мікоплазм до похідних арилаліфатичних аміноспиртів..... 48

*Клименко К. І., Новохацька Т. В., Кізуб І. В., Досенко В. Є., Соловійов А. І.* Вплив сайленсінгу генів  $\alpha$  та  $\delta$  ізоформ протеїнкінази С на іонну каналопатію та ендотеліальну дисфункцію аорти діабетичних щурів..... 53

*Колос О. М., Зайченко Г. В., Рубашкіна О. В., Зайченко О. А., Брюханова Т. О.* Клінічні, біохімічні та імунологічні маркери гіперчутливості в мурчаків під впливом циклорину..... 60

---

<i>Лук'янчук В. Д., Шебалдова К. О., Кравець Д. С., Бобкова Л. С.</i> Дослідження фармакометричних показників режиму дозування антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3 .....	66
<i>Мельниківська Н. В., Кудря М. Я., Палагіна І. А., Устенко Н. В., Жураковська М. В., Павленко Т. О., Сукова Ю. П.</i> Роль 2-гідроксифенілсукцинамиду та β-фенілетилсукцинамиду в реалізації антиоксидантних властивостей антидіабетичного засобу – похідного бурштинової кислоти.....	70

## **РОЗРОБКА НОВИХ МЕТОДИЧНИХ ПРИЙОМІВ**

<i>Стрелков Є. В., Паршиков О. В., Кізуб І. В., Гула Н. С., Дуняк Ю. О., Добреля Н. В., Хромов О. С.</i> Відеомікроскопічний аналіз скоротливої активності внутрішньолегеневих артерій у реальному часі .....	76
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## **ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ**

<i>Григор'єва К. В.</i> Морфофункціональний стан органів імунної системи під впливом сполуки Флудинат .....	81
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## **РЕЦЕНЗІЇ**

<i>Бухтіарова Т. А.</i> Рецензія на підручник «Фармакологія» для студентів стоматологічних факультетів медичних вузів України III–IV рівнів акредитації .....	85
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## **ІНФОРМАЦІЯ З БЕЗПЕКИ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

За сторінками журналу «WHO Pharmaceuticals Newsletter» .....	86
--------------------------------------------------------------	----

## **ОСОБИСТОСТІ**

Ісаак Михайлович Трахтенберг .....	91
Академіку М. М. Амосову – 100 років .....	94
До 50-річчя науково-педагогічної діяльності завідувача кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця Івана Сергійовича Чекмана .....	97
Светлой пам'яті ученого и педагога Виктора Владимировича Дунаева.....	101

<b>CONTENT</b> .....	103
----------------------	-----

О. В. Кривов'яз

## Фармакотерапія глаукоми: сучасний стан проблеми

*Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова***Ключові слова:** глаукома, фармакотерапія

Глаукома – розповсюджене офтальмологічне захворювання, яке займає провідне місце серед причин розвитку сліпоти в Україні та світі [1–4]. Це захворювання протягом тривалого часу (інколи декількох років) може протікати практично безсимптомно [5].

Патогенез глаукоми є мультифакторним та має два основних механізми, один із яких реалізується в передньому відділі ока та призводить у кінцевому результаті до підвищення внутрішньоочного тиску (ВОТ), а інший – у задньому відділі очного яблука, сприяє розвитку специфічної атрофії зорового нерва [4–9]. Зважаючи на механізми розвитку глаукоми, обирається відповідна тактика лікування пацієнтів [10]. Єдиним патогенетично доведеним способом уповільнення прогресування процесу є зниження ВОТ нижче толерантного. Проте сьогодні дослідниками доведено ще один фактор ризику прогресування глаукомної оптичної нейропатії – значні коливання ВОТ протягом доби, що може призводити до порушення гомеостазу та викликати нерівномірні навантаження на зоровий нерв, прискорюючи цим прогресування захворювання [11–14].

Згідно з сучасною класифікацією, запропонованою в 2001 році А. П. Нестеровим та Є. О. Єгоровим, глаукому поділяють на первинну та вторинну (за походженням); закрито- та відкритокутову (за механізмом підвищення ВОТ); нормо- та гіпертензивну (за рівнем ВОТ); стабілізовану та нестабілізовану (за перебігом захворювання); початкову, розвинуту, таку, що далеко зайшла, та термінальну (за ступенем вираження патологічного процесу); уроджену, інфантильну, ювенільну

та глаукому дорослих (за віком пацієнтів) [11].

Первинна глаукома, за якої патологічні процеси спочатку виникають у куті передньої камери, у дренажній системі ока та диску зорового нерва, є початковим етапом патогенезу глаукоми та може не супроводжуватись клінічними симптомами, а отже привертає найбільшу увагу як з точки зору раннього діагностування, так і своєчасного лікування, оскільки розпочате із запізненням або неефективне лікування може призвести до серйозних наслідків. Первинна глаукома зустрічається в трьох основних клінічних формах: відкритокутова, закритокутова, змішана [7, 11, 15].

Частка первинної відкритокутової глаукоми (ПВКГ) у структурі захворюваності на глаукому становить понад 80 %. Діагноз первинної відкритокутової глаукоми щорічно вперше ставиться 1 з 1500 людей у віці старше 35 років, тоді як захворюваність осіб старше 60 років становить 3–4 % [16–17].

Лікування первинної відкритокутової глаукоми поділяється на консервативне, лазерне та оперативне, проте починається завжди з місцевого застосування медикаментозних засобів гіпотензивної дії (таблиця) [7, 11, 13, 15, 18].

Хворим на відкритокутову форму первинної глаукоми в першу чергу призначають інстиляції препаратів із групи β-адреноблокаторів, а при необхідності додають з часом α-адреноміметики, холінергічні засоби, інгібітори карбоангідрази. Усі ці препарати знижують продукцію водянистої вологи та сприяють підвищенню її відтоку через трабекулярну сітку, проте останніми роками з'явилися препарати, що підвищують відтік водянистої вологи увеосклеральним шляхом – синтетичні аналоги простагландинів [10, 15, 19].

**Основні лікарські засоби, що застосовуються  
для лікування відкритокутової глаукоми**

Найменування	Група	Лікарський засіб
<i>Засоби, що покращують відтік внутрішньоочної рідини</i>		
Холіноміметичні засоби	М-холіноміметики	Пілокарпін
Адрено- та симпатоміметики	$\alpha$ - та $\beta$ -адреноміметики	Карбахол
Простагландини	Аналоги простагландину $F_{2\alpha}$	Латанопрост Травопрост Тафлупрост
<i>Засоби, що пригнічують продукцію внутрішньоочної рідини</i>		
Адрено- та симпатоміметики	$\alpha_2$ - адреноміметики	Клонідин, бримонідин
Антиадренергічні засоби	$\alpha$ - та $\beta$ - адреноблокатори	Проксодолол
	$\beta_1$ - та $\beta_2$ - адреноблокатори	Тимолол
	$\beta_1$ - адреноблокатори	Бетаксол
Антиферменти	Інгібітори карбоангідрази	Бринзоламід Дорзоламід Ацетазоламід
Комбіновані препарати		Фотил Фотил форте (пілокарпін + тимолол) Ксалаком (латанопрост + тимолол) Проксофелін (проксодолол+ клонідин)

Першочерговим завданням офтальмологів, що призначають вищезазначені препарати, є досягнення цільового тиску у хворого з метою стабілізації зорових функцій [10, 19–21].

Принципи призначення схем гіпотензивної терапії при лікуванні глаукоми хоча і не були піддані суттєвим змінам протягом останнього десятиріччя, проте заслуговують на більш пильне вивчення в зв'язку з появою нових фармацевтичних продуктів, оскільки перед практичним лікарем гостро постає проблема вибору лікарського засобу. Таким чином, визначення гіпотензивного засобу, який не тільки знижує середньодобовий показник ВОТ, але й максимально вирівнює криву добових коливань офтальмотонусу, визначає оптимальну тактику місцевої гіпотензивної фармакотерапії глаукоми [22]. Крім цього, прийняття рішення має базуватись на урахуванні побічних ефектів діючих та допоміжних речовин препарату, та, як

наслідок, протипоказів до застосування препарату в певного пацієнта, особливо зважаючи на те, що глаукома потребує тривалого та безперервного лікування [23]. Ураховуючи, що пацієнти переважно є людьми похилого віку, мають супутні патології та застосовують інші лікарські засоби, необхідне також ретельне вивчення можливих взаємодій протиглаукомних препаратів з тими, що призначені пацієнту спеціалістами іншого профілю. Крім того, вартість препарату має суттєвий вплив на прихильність пацієнта до лікування, оскільки можливість оплачувати лікування протягом тривалого періоду часу з дотриманням параметрів інстиляцій є важливим фактором у збереженні зорових функцій [13, 17].

Однією з першочергових та найперспективніших ланок лікування ПВКГ є застосування лікарських засобів, що покращують відтік внутрішньоочної рідини – синтетичних аналогів проста-



гландинів (Латанопрост, Травопрост, Тафлупрост) [10, 22, 24–25]. По-перше, це пов'язано з їхнім значним гіпотензивним ефектом, який досягається при застосуванні препаратів у мінімальних концентраціях, а, отже, зменшує кількість можливих системних побічних реакцій (мігрень, суглобовий та м'язовий біль, задишка, астма) [26]. Застосування препаратів даної групи призводить до такої місцевої побічної реакції, як кон'юнктивальна гіперемія з частотою від 5 % до 68 %. У дослідженнях показано, що пацієнти в 90 % випадків продовжують терапію аналогами простагландинів, незважаючи на гіперемію [27]. Також з боку органа зору застосування простагландинів може спричинити подразнення, відчуття стороннього тіла, свербіж, потемніння та посилення росту вій (зворотний ефект), пігментацію нижньої повіки, епітеліальну кератопатію, зміну кольору райдужки. Алергічні реакції зустрічаються в 1 % випадків [17, 28], та найчастіше їх викликає Латанопрост (16 %), найрідше – Травопрост (3 %) [29].

Проведені порівняльні дослідження ефективності аналогів простагландинів порівняно з  $\beta$ -блокаторами протягом 36 міс спостереження в пацієнтів з ПВКГ показали меншу ефективність останніх щодо зниження ВОТ [30–32]. Переважна більшість пацієнтів, що відмічали респіраторні ускладнення, використовували  $\beta$ -блокатори. На появу гіперемії скаржилися пацієнти, що отримували терапію аналогами простагландинів. Наведені дослідження свідчать про більшу ефективність аналогів простагландинів порівняно з  $\beta$ -блокаторами [31, 33–34]. Однак зазначені групи препаратів мають різну точку прикладання і механізм впливу на рівень ВОТ.  $\beta$ -блокатори порівняно з аналогами простагландинів використовуються менше в зв'язку з їхньою побічною дією у пацієнтів з ішемічною хворобою серця і захворюваннями бронхолегеневої системи [35].

При порівнянні гіпотезивної дії протягом 12 міс було встановлено, що аналогі простагландинів є більш ефективними в зниженні ВОТ від вихідного рівня, ніж симпатоміметики [36]. Також зазначається, що значно більше

алергічних реакцій відмічали пацієнти, які використовували симпатоміметики порівняно з тими, що отримували аналоги простагландинів.

Натепер  $\beta$ -адреноблокатори (Тимолл, Бетаксолл) застосовуються як препарати першого вибору в лікуванні глауками завдяки зменшенню ними продукції внутрішньоочної рідини. Цей клас представлений великою кількістю препаратів із різною формою випуску та концентрацією [37].

Поява очних крапель  $\beta$ -адреноблокаторів наприкінці 1970-х років була проривом у лікуванні глауками. Механізм їхньої дії пов'язаний з блокадою  $\beta$ -адренорецепторів, унаслідок чого зменшується симпатична стимуляція цилиарного тіла та знижується продукція водянистої вологи [38].

Авторами протягом 6 років спостереження було проведено порівняння ефективності  $\beta$ -блокаторів з відсутністю лікування. У результаті дослідження не було встановлено статистично значущих відмінностей у пацієнтів з прогресуванням змін полів зору. Щодо зниження ВОТ від базового рівня, то було встановлено вищу ефективність  $\beta$ -блокаторів, проте зі значними нез'ясованими статистичними неоднорідностями в результатах наведених досліджень. У групі пацієнтів з неконтрольованим ВОТ більше 30 мм. рт. ст. не було виявлено статистично значущої різниці протягом 10 років спостереження. Також не було встановлено статистично значущої різниці в групі пацієнтів з респіраторними або серцево-судинними ускладненнями [39–42].

Таким чином, протягом останніх 20 років очні краплі  $\beta$ -адреноблокаторів є найпопулярнішими лікарськими засобами в лікуванні глауками, та їх вважають препаратами першого вибору. Проте виявлені пізніше місцеві та системні побічні ефекти внесли сумнів у цю думку.

Місцеві побічні реакції з боку органа зору при застосуванні  $\beta$ -адреноблокаторів зустрічаються відносно рідко. Вони проявляються відчуттям подразнення та печіння, затуманенням зору, транзиторною міопією, відчуттям стороннього тіла, фотофобією, свербінням, а також розвитком макулярного набря-

ку; рідко може спостерігатися зниження чутливості рогівки, що пов'язане з мембраностабілізуючими властивостями  $\beta$ -адреноблокаторів.

Однак системні побічні ефекти є досить розповсюдженими та обмежують застосування препаратів даної групи [43]. Більшість системних ефектів розвивається внаслідок кумуляції певної кількості препарату. Зокрема, загострення астми та хронічних обструктивних захворювань легень (ХОЗЛ), пов'язаних з бронхоспазмом, виникають при застосуванні очних крапель неселективних  $\beta$ -адреноблокаторів, та в меншому ступені виражені в селективного  $\beta$ -адреноблокатора Бетаксолу. Брадикардія – інший можливий побічний ефект застосування  $\beta$ -адреноблокаторів, пов'язаний з їхнім впливом на серцеву провідність; вони також можуть посилювати нічну артеріальну гіпотонію. Більшість неселективних  $\beta$ -адреноблокаторів здатні спричиняти підвищення рівня холестерину в крові, що може призвести до розвитку захворювань коронарних судин. Щодо ЦНС, то  $\beta$ -адреноблокатори при тривалому застосуванні можуть викликати у хворих на глаукому депресію внаслідок блокади передачі нервових імпульсів в ЦНС та зниження концентрації катехоламінів і серотоніну.  $\beta$ -адреноблокатори можуть маскувати симптоми гострої гіпоглікемії, гіпертиреозидизму та тиреотоксикозу. Також ця група препаратів характеризується здатністю викликати тахіфілаксію, що значною мірою знижує їхню ефективність з часом [43–46].

Зниження ризику проявів системних побічних ефектів було досягнуто синтезуванням селективних  $\beta_1$ -адреноблокаторів, представником яких в офтальмології є Бетаксол, який не впливає на  $\beta_2$ -адренорецептори і тому може бути застосований у пацієнтів з такими супутніми захворюваннями, як ХОЗЛ та метаболічний синдром. Також Бетаксол унаслідок відсутності місцево-анестезуючої дії не знижує чутливість рогівки при тривалому застосуванні та менш здатний викликати депресію [44]. Слід також зазначити одну з найголовніших переваг даного препарату –

непряму нейропротекторну дію, що є важливим в терапії оптичної нейропатії при глаукомі.

Важливе місце в лікуванні глауками займають препарати, що зменшують продукцію внутрішньоочної рідини, зокрема інгібітори карбоангідрази (КА) (Ацетазоламід, Дорзоламід, Бринзоламід). Початок застосування системних КА дається серединою 50-х років ХХ сторіччя [21].

Проведене авторами порівняльне дослідження інгібіторів карбоангідрази з відсутністю лікування не показало статистично значущих відмінностей протягом 5 років спостереження в пацієнтів з ПВКГ, у тому числі з прогресуванням змін полів зору [45].

При вивченні гіпотензивного ефекту інгібіторів карбоангідрази порівняно з  $\beta$ -блокаторами було встановлено, що інгібітори карбоангідрази менш ефективні, ніж  $\beta$ -блокатори у зниженні ВОТ від вихідного рівня протягом спостереження (12–18 міс). Були відсутні статистично значущі відмінності між інгібіторами карбоангідрази і  $\beta$ -блокаторами у хворих з гіперемією протягом 18 міс спостереження [46].

Місцеві побічні ефекти препаратів даної групи проявляються у вигляді відчуття печіння, поколювання та проявах алергії. Проте велика кількість системних побічних ефектів обмежує їхнє застосування. Так, інгібуючи фермент карбоангідразу, вони змінюють рівень електролітів, призводячи до гіпокаліємії, а також порушують кислотно-лужний баланс, спричиняють метаболічний ацидоз. Як наслідок розвиваються системні ефекти з боку ЦНС, шкіри, ендокринної системи, травного тракту, кровотворної та сечовивідної систем [43].

Велика кількість системних побічних ефектів стала передумовою створення місцевих КА для лікування глаукоми, проте вони значно поступаються препаратам системної дії за рівнем гіпотензивного ефекту. Досі не встановлено прямого зв'язку між застосуванням місцевих КА та розвитком побічних реакцій (зокрема, апластичної анемії та синдрому Стівена-Джонсона) [45].

Препаратами багатоспрямованої дії є  $\alpha_2$ -адренергічні стимулятори (Бримонідин, Клонідин), які водночас зменшують продукцію внутрішньоочної рідини та збільшують її відтік. До цієї групи належать Клонідин, Апраклонідин та Бримонідин. За гіпотензивною дією Клонідин наближається до Тимололу. Апраклонідин (0,5–1,0 % розчини) на відміну від Клонідину погано проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр та майже не впливає на загальний стан хворого. Бримонідин (0,2–0,5 % розчини) також не впливає на ЦНС, артеріальний тиск та серцевий ритм [47].

До групи препаратів, що стимулюють водночас  $\alpha$ - та  $\beta$ -адренорецептори, належить адреналін, який характеризується короткочасним зменшенням продукування водянистої вологи та покращанням її відтоку з ока. Високоєфективною гіпотензивною дією при ПВКГ характеризується дипівалат адреналіну, який відноситься до «проліків», що вивільняють адреналін внаслідок біотрансформації в тканинах ока. Усі препарати групи адреналіну, що застосовуються при ПВКГ, можна поєднувати з Пілокарпіном.

У вітчизняних та іноземних наукових джерелах було опубліковано інформацію щодо дослідження ефективності симпатоміметиків порівняно з  $\beta$ -блокаторами у хворих на глаукому. Так, автори зазначають, що не існує статистично значущих відмінностей між досліджуваними групами препаратів у пацієнтів з прогресуванням змін полів зору та в зниженні ВОТ від вихідного рівня протягом 12 місяців спостереження. Проте дослідники звертають увагу на те, що значно більше алергічних реакцій було зареєстровано в пацієнтів, що використовували симпатоміметики, ніж у тих, хто лікувалися  $\beta$ -блокаторами протягом 12 міс спостереження [48–49].

Побічні ефекти даної групи препаратів є локальними для очей і включають гіперемію ока й алергічні реакції, хоча спостерігаються також реакції з боку центральної нервової системи у вигляді сонливості.

Міотики дедалі рідше використовуються для лікування відкритокутової

глаукоми та офтальмогіпертензії, головним чином, унаслідок поганої переносимості та побічних ефектів цих препаратів, до яких відносяться міоз зіниці, що часто супроводжується болем у надбрівній ділянці, зниження акомодатії та змитість зору. Використовуються міотики майже виключно для лікування закритокутової, змішаної та деяких вторинних глауком.

Пілокарпін є препаратом для лікування глаукоми, що застосовується понад 140 років. Механізм дії полягає в покращанні відтоку вологи за рахунок стимуляції циліарного м'яза та наступного натягу трабекули. Проте, незважаючи на свою ефективність, Пілокарпін має суттєві побічні реакції: міоз, іммобілізація райдужки, іридоцикліт. Тривале скорочення циліарного м'яза призводить до напруження акомодатії, виникнення головного болю та болю в надбрівній ділянці. На тлі застосування міотиків підвищується проникність гематофтальмічного бар'єра. Унаслідок М-холіноміметичних властивостей Пілокарпін може спричиняти бронхоспазм, діарею та спастичні болі в кишківнику за рахунок підвищення тонуусу та скоротливої активності м'язів [50].

Проведені клінічні дослідження не показали значущих відмінностей між міотиками та  $\beta$ -блокаторами щодо зниження ВОТ від вихідного рівня протягом 17–24 міс спостереження. Тому використання міотиків є доцільним і виправданим лише при закритокутової глаукомі, у інших випадках їхнє застосування недоцільне [51–52].

Більшість дослідників схиляються до думки, що при лікуванні хворих на глаукому необхідно покращувати кровопостачання ока. Такі властивості мають як монопрепарати (нейропротекторна терапія), так і антиглаукомні очні краплі, які є комбінаціями речовин з різними механізмами дії, але при взаємодії спостерігається адитивний ефект [19].

Так, для підвищення ефективності медикаментозного лікування та покращання якості життя пацієнтів було розроблено препарати, найбільшого розповсюдження серед яких набули

комбінації, однією зі складових яких є β-адреноблокатори, зокрема, тимололу малеат [37].

Важливе місце серед зазначених комбінацій посідають поєднання β-адреноблокатора та інгібітора карбоангідрази через виражену гіпотензивну активність [29, 53–55]. На сучасному фармацевтичному ринку представником даної групи є Косопт (MSD, США), який знижує офтальмотонус приблизно на 30 % від базового, а максимальне зниження ВОТ сягає 43 % [56]. Ефект розпочинається через 1 год після одноразової інстиляції, досягає максимуму через 4–6 год та триває до 24 год [57]. При вивченні гіпотензивної активності Косопта порівняно з окремим застосуванням його компонентів в одному з досліджень було зареєстровано співставиме зниження рівня ВОТ. В іншому випадку було встановлено, що Косопт додатково знизив рівень ВОТ на 1,5 мм рт. ст. [58]. За даними авторів, статистично значиме посилення гіпотензивного ефекту відмічалось у 83 % випадків усіх призначень препарату з метою зниження офтальмотонусу в пацієнтів з високим вихідним рівнем ВОТ [59]. Також встановлено, що призначення комбінації Косопту з Латанопростом (Ксалатан, Пфайзер, США) призводить до зниження ВОТ як у пацієнтів, що не приймали до цього жодних протиглаукомних препаратів, так і в тих, хто вже застосовували Тимолол або Ксалатан [60]. У роботах, присвячених вивченню ефективності Косопта порівняно з монотерапією препаратами простагландинів встановлено, що Косопт краще знижує рівень ВОТ. При цьому автори не знайшли достовірної різниці в отриманих результатах, у тому числі в пацієнтів з прогресуванням змін полів зору за критерієм зниження ВОТ від вихідного рівня протягом 6 міс спостереження, а також за кінцевими параметрами офтальмотонусу в пацієнтів, які отримували Косопт та Біматопрост [59, 61]. До того ж, простагландини викликають гіперемію частіше, ніж фіксована комбінація інгібітора карбоангідрази з β-блокаторами протягом 6 міс [62].

Поєднання інгібіторів карбоангідрази з β-блокаторами є менш ефективни-

ми, ніж аналоги простагландинів у хворих з прийнятним ВОТ (менше 21 мм рт. ст.) протягом 24 міс подальших спостережень. Не було встановлено статистично значущих відмінностей між окремими поєднаннями інгібіторів карбоангідрази з β-блокаторами та монотерапією аналогами простагландинів у зниженні ВОТ від вихідного рівня протягом 6 міс спостережень у пацієнтів з прогресуванням змін полів зору [63–64].

Вивчення впливу комбінації Дорзоламід у 2 % з Тимололом 0,5 % на рівень ВОТ та ретробульбарну гемодинаміку протягом 4 років у пацієнтів з глаукомою, які раніше отримували монотерапію Тимололом, показало позитивні зміни важливих показників (додаткове зниження ВОТ, зміну індексу резистентності в *a. ophthalmica*, ЦАС та короткій задній циліарній артерії) при додатковому призначенні Дорзоламід у 2 % [65]. Проте зазначається, що базові показники світлочутливості сітківки в групі Дорзоламід у 2 % з Тимололом були гіршими порівняно з контрольною групою.

На думку багатьох науковців, найнеобхіднішою є фіксована комбінація β-адреноблокатора з препаратами простагландинового ряду, що пояснюється високою гіпотензивною ефективністю [57]. Сьогодні на світовому фармацевтичному ринку представлені такі препарати, як Ксалаком (Пфайзер, США); Дуотрав (Алкон, США); Ганфорт (Аллерган, США) [19, 37].

Так, встановлено, що Ксалаком був дещо ефективнішим порівняно з Косоптом при вимірюванні ВОТ протягом 90 діб спостереження, хоча статистично значущої різниці зафіксовано не було [66–67]. При цьому Косопт достовірно збільшив об'єм кровонаповнення та систолічний об'єм у центральній та задній циліарній артерії на відміну від Ксалакома [60].

У дослідженнях, спрямованих на виявлення відмінностей між застосуванням фіксованих комбінацій аналогів простагландинів з β-блокаторами і монотерапією аналогами простагландинів у зниженні ВОТ від вихідного рівня, не було встановлено статистично значущої різниці протягом 6 міс спо-



стереження серед хворих з прийнятним ВОТ (менше 18 мм рт. ст.), а також у тих, у кого спостерігали респіраторні та серцево-судинні ускладнення, або гіперемію [53, 57].

Окремі поєднання аналогів простагландинів з  $\beta$ -блокаторами є більш ефективними, ніж  $\beta$ -блокатори окремо в більшості пацієнтів, які досягають ВОТ, нижчого за 17 мм рт. ст., протягом 6 місяців спостереження. Проте не було встановлено статистично достовірних відмінностей зміни ВОТ від вихідного рівня серед пацієнтів з прогресуванням змін полів зору. Значно більше пацієнтів, що використовують фіксовані поєднання аналогів простагландинів з  $\beta$ -блокаторами, відмічають гіперемію [57, 68].

Також на фармацевтичному ринку комбінованих протиглаукомних препаратів представлено групу симпатоміметиків у поєднанні з  $\beta$ -адреноблокаторами [58, 69–70]. Дослідження їхньої ефективності порівняно з монотерапією  $\beta$ -блокаторами не показали статистично значимих результатів щодо зміни ВОТ від вихідного рівня, вираженого у вигляді абсолютного значення зі стандартним відхиленням у пацієнтів з прогресуванням змін полів зору. Проте було встановлено, що досліджувані фіксовані комбінації є більш ефективними в пацієнтів з прийнятним ВОТ (нижче 17.5 мм рт. ст.), хоча в значно більшій кількості людей викликають алергічні реакції та гіперемію [59, 61, 67, 69, 71–74].

Таким чином, для фармакотерапії глаукоми наявний широкий асортимент лікарських засобів (як однокомпонентних, так і комбінованих), що забезпечує можливість проведення декількох напрямів лікування.

Основною метою призначення адекватної, у тому числі комбінованої, терапії з застосуванням сучасних лікарських засобів є зниження їхньої концентрації при мінімальній кількості побічних ефектів та частоти застосування за умов збереження максимальної ефективності.

Застосування політики інформованості пацієнта спрямоване на отримання ним даних про можливі побічні ефекти терапії, оволодіння навичками виконання інстиляцій, у тому числі знання про час та частоту застосування ліків, тривалість дії призначених препаратів, ступінь зниження ВОТ, а також необхідність своєчасного та регулярного динамічного обстеження з метою безперервного моніторингу зорових функцій.

Лікування первинної відкритокутової глаукоми – це важлива медична, фармацевтична та соціально-економічна проблема, вирішення якої потребує налагодження взаємодії різних ланок медичної допомоги для більш якісного лікування пацієнтів і зниження рівня інвалідизації; а переконання пацієнта у необхідності виконання призначень та здатність зробити його партнером у лікуванні – важке завдання, від виконання якого залежатиме ефективність фармакотерапії.

Беручи до уваги різноманіття асортименту протиглаукомних лікарських засобів на сучасному фармацевтичному ринку, з метою найоптимальнішого використання коштів системи охорони здоров'я актуальним та перспективним напрямом досліджень є проведення фармакоеконімічної оцінки лікування глаукоми.

1. Kingman S. Glaucoma is second leading cause of blindness globally / S. Kingman // Bull World Health Organ. – 2004. – № 82 (11). – P. 887–888.
2. Еричев В. П. Качество жизни больного глаукомой – право выбора / В. П. Еричев, Дж. Н. Ловпаче // Сб. научн. стат. Всеросийск. научн.– практ. конф. – М., 2004. – С. 403–406.
3. Glaucoma. Basic and clinical course. – American Academy of Ophthalmology, 2005. – 242 p.
4. Damji K. F. Shields' Textbook of Glaucoma / Damji K. F., Freedman S., Moroi S. E. – [6-th ed.]. – Lippincott Williams & Wilkins, 2010. – 656 p.
5. Дуглас Дж. Р. Глаукома / Дж. Р. Дуглас. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 472 с.
6. Золотарев А. В. Роль трабекулярной сети в осуществлении увеосклерального оттока / Золотарев А. В., Карлова Е. В., Николаева Г. А. // Клиническая офтальмология. – 2006. – Т. 7, № 2. – С. 67–70.
7. Национальное руководство по глаукоме (путеводитель) для поликлинических врачей / [Егоров Е. А., Астахов Ю. С., Шуко А. Г.]. – [1-е изд.]. – М., 2008. – 216 с.
8. Волков В. В. Глаукома открытоугольная / В. В. Волков. – М.: МИА, 2008. – 352 с.

9. Куроедов А. В. Глаукома: теории, тенденции, технологии / А. В. Куроедов, В. В. Городничий // Военно-медицинский журнал. – 2007. – № 2. – С. 84–86.
10. Рациональная фармакотерапия в офтальмологии: рук. для практикующих врачей / Е. А. Егоров, В. Н. Алексеев, Ю. С. Астахов [и др.]; под общ. ред. Е. А. Егорова. – М.: Литтерра, 2004. – 954 с.
11. Нестеров А. П. Глаукома / Нестеров А. П. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. – 360 с.
12. Caprioli J. Intraocular pressure fluctuation: an independent risk factor / Caprioli J. – Elsevier, 2007. – 197 p.
13. Edgar D. F. Glaucoma identification and co-management / D. F. Edgar, A. R. Rudnicka. – Elsevier, 2007. – 197 p.
14. Листопадова Н. А. Глаукомная нейропатия зрительного нерва: ранняя и дифференциальная диагностика, особенности клиники и лечения: автореф. дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук: спец. 14.00.08 «Глазные болезни» / Н. А. Листопадова. – М., 2000. – 54 с.
15. Terminology and guidelines for glaucoma. – European Glaucoma Society, 2008. – 184 p.
16. Thomas R. Glaucoma management in developing countries: medical, laser, and surgical options for glaucoma management in countries with limited resources / R. Thomas, G. C. Sekhar, R. S. Kumar // Curr Opin Ophthalmol. – 2004. – № 15(2). – P. 127–131.
17. Higginbotham E. J. Clinical Guide to Glaucoma management / E. J. Higginbotham, D. A. Lee. – Oxford: Butterworth-Heinemann, 2004. – 624 p.
18. Shaaravy T. Glaucoma Therapy. Current Issues and Controversies / T. Shaaravy, J. Flammer. – London and New York: CRC Press, 2003. – 336 p.
19. Егоров Е. А. Офтальмофармакология / Егоров Е. А., Астахов Ю. С., Ставицкая Т. В. – М.: Изд. Дом «Геотар-Мед», 2004. – 469 с.
20. Нестеров А. П. Глаукома – дискуссионные проблемы. Доклад на конференции «Актуальные проблемы глаукомы» / Нестеров А. П. // РМЖ. – 2004. – Т. 5, № 2. – С. 49–51.
21. Фламмер Дж. Глаукома / Фламмер Дж. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 448 с.
22. IOP-lowering effects of glaucoma drugs: summary of a recent meta-analysis / R. Valk, C. Webers, J. Schouten [et al.] // Arch Ophthalmol. – 2005. – № 123. – P. 929–932.
23. Егоров Е. А. Нежелательные явления гипотензивной терапии глаукомы / Егоров Е. А. // Клиническая офтальмология. – 2007. – Т. 8, № 4. – С. 144–147.
24. Еричев В. П. Основные направления гипотензивного лечения больных первичной глаукомой / Еричев В. П. // Рус. офтальмол. журн. – 2000. – Т. 1. – С. 18–21.
25. Long term affect of latanoprost on intraocular pressure in normal tension glaucoma / [Ang A., Reddy M. A., Shepstone L., Broadway D. C.]. // Br. J. Ophthalmol. – 2004. – V. 88. – P. 630–634.
26. Schumer R. A. Putative side effects of prostaglandin analogs / R. A. Schumer, C. B. Camras, A. K. Mandahl // Surv Ophthalmol. – 2002. – № 47. – P. 219.
27. Conjunctival Hyperemia in Healthy Subjects After Short-term Dosing With Latanoprost, Bimatoprost, and Travoprost / [Stewart W. C., Kolker A. E., Stewart J. A. et al.]. // American Journal of Ophthalmology. – 2003. – № 135 (3). – P. 314–320.
28. European Glaucoma Society – Terminology & Guidelines for Glaucoma (European Guidelines) / Glaucoma Society. – [2nd ed.]. – Savona, Italy: Editrice DOGMA, 2003. – № 3. – P. 3–26.
29. Comparative efficacy and safety of fixed combinations of Travoprost 0,004 % / Timolol 0,5 % and Latanoprost 0,005 % / Timolol 0,5 % in patients with open-angle glaucoma or ocular hypertention: a 1-year study / J. M. Martines de la Casa, H. Weiland, D. Wells, K. Sullivan // Book of abstracts World Glaucoma Congress. – Vienna, 2005. – P. 161.
30. A 6-month assessment of bimatoprost 0,03 % vs timolol maleate 0,5 %: hypotensive efficacy, macular thickness and flare in ocular-hypertensive and glaucoma patients / [E. Martin, J. M. Martinez de la Casa, J. Garcia-Feijoo et al.]. // Eye. – 2007. – № 21 (2). – P. 164–168.
31. A three-year prospective, randomized and open comparison between latanoprost and timolol in Japanese normal-tension glaucoma patients / G. Tomita, M. Araie, Y. Kitazawa, S. Tsukahara // Eye. – 2004. – № 18(10). – P. 984–989.
32. Comparison of the effects of bimatoprost and timolol on intraocular pressure and pulsatile ocular blood flow in patients with primary open-angle glaucoma: A prospective, open-label, randomized, two-arm, parallel-group study / M. Vetrugno, N. Cardascia, F. Cantatore, C. Sborgia // Current Therapeutic Research, Clinical & Experimental. – 2004. – № 65 (6). – P. 444–454.
33. Crossover comparison of timolol and latanoprost in chronic primary angle-closure glaucoma / R. Sihota, R. Saxena, H. C. Agarwal, V. Gulati // Arch Ophthalmol. – 2004. – № 122 (2). – P. 185–189.
34. Comparison of the diurnal ocular hypotensive efficacy of travoprost and latanoprost over a 44-hour period in patients with elevated intraocular pressure / [Dubiner H. B., Sircy M. D., Landry T. et al.]. // Clinical Therapeutics. – 2004. – V. 26. – № 1. – P. 84–91.
35. Intraocular Pressure-lowering Effect and Safety of Travoprost 0.004 % and Latanoprost 0.005 % for the Treatment of Chronic Angle Closure Glaucoma / [Paul T. K. Chew, Prin Rojana Pongpun, Ataya Euswas et al.]. // Asian Journal of Ophthalmology. – 2006. – V. 8, № 1. – P. 13–19.

36. *Camras C. B.* United States Latanoprost-Brimonidine Study Group. Latanoprost or brimonidine as treatment for elevated intraocular pressure: multicenter trial in the United States / C. B. Camras, W. P. Sheu // *Journal of Glaucoma.*– 2005. – V.14 (2).– P. 161–167.
37. Компендиум on-line.– [Електронний ресурс].– Режим доступу: <http://compendium.com.ua>.
38. A 7 year prospective comparative study of three topical beta blockers in the management of primary open angle glaucoma / [Watson P. G., Bamett M. F., Parker V., Haybittle J.]. // *Br J Ophthalmol.*– 2001.– № 85 (8).– P. 962–968.
39. Results of the betaxolol versus placebo treatment trial in ocular hypertension / D. Kamal, D. Garway-Heath, S. Ruben [et al.] // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*– 2003.– № 241 (3).– P. 196–203.
40. A persistency and economic analysis of latanoprost, bimatoprost, or beta-blockers in patients with open-angle glaucoma or ocular hypertension / D. G. Day, P. N. Schacknow, E. D. Sharpe [et al.]. // *Journal of Ocular Pharmacology & Therapeutics.*– 2004.– № 20 (5).– P. 383–392.
41. *Bucci M. G.* Intraocular pressure-lowering effects of latanoprost monotherapy versus latanoprost or pilocarpine in combination with timolol: a randomized, observer-masked multicenter study in patients with open-angle glaucoma / M. G. Bucci // *Italian Latanoprost Study Group. Journal of Glaucoma.*– 1999.– № 8 (1).– P. 24–30.
42. *Alm A.* Effects on intraocular pressure and side effects of 0.005 % latanoprost applied once daily, evening or morning. A comparison with timolol / A. Alm, J. Stjernschantz // *Scandinavian Latanoprost Study Group. Ophthalmology.*– 1995.– № 102 (12).– P. 1743–1752.
43. *Gerber S. L.* Systemic side effects & interactions of glaucoma medications / S. L. Gerber, L. B. Cantor // *Clinical Guide to Glaucoma management.*– Oxford: Butterworth & Heinemann Elsevier Inc., 2004.– № 8.– P. 123–145.
44. *Ставицкая Т. В.* Сравнение возможности применения бета-адреноблокаторов для нейропротекторной терапии глаукомы / Ставицкая Т. В., Егоров Е. А., Сугоняева О. Ю. // *Клиническая офтальмология.*– 2004.– № 5 (2).– С. 59–60.
45. Results of the European Glaucoma Prevention Study / Miglior S., Zeyen T., Pfeiffer N. [et al.]. // *Ophthalmology.*– 2005.– № 112 (3).– P. 366–375.
46. *March W. F.* The long-term safety and efficacy of brinzolamide 1.0 % (azopt) in patients with primary open-angle glaucoma or ocular hypertension / W. F. March, K. I. Ochsner // *The Brinzolamide Long-Term Therapy Study Group. American Journal of Ophthalmology.*– 2000.– № 129 (2).– P. 136–143.
47. A 1-year study of brimonidine twice daily in glaucoma and ocular hypertension. A controlled, randomized, multicenter clinical trial / Schuman J. S., Horwitz B., Choplin N. T. [et al.]. // *Chronic Brimonidine Study Group. Archives of Ophthalmology.*– 1997.– № 115 (7).– P. 847–852.
48. *Le Pen C.* Cost-effectiveness and cost-utility analysis of travoprost versus latanoprost and timolol in the treatment of advanced glaucoma in five European countries: Austria, France, Germany, The Netherlands and the United Kingdom / Le Pen C., Ligier M., Berdeaux G. // *Journal of Medical Economics.*– 2005.– № 8.– P. 67–84.
49. *Tsai J. C.* Comparison of the effects of brimonidine 0.2 % and timolol 0.5 % on retinal nerve fiber layer thickness in ocular hypertensive patients: A prospective, unmasked study / J. C. Tsai, H. W. Chang // *Journal of Ocular Pharmacology & Therapeutics.*– 2005.– № 21 (6).– P. 475–482.
50. *Drance S. M.* A comparison of the effects of betaxolol, timolol, and pilocarpine on visual function in patients with open-angle glaucoma / Drance S. M. // *Journal of Glaucoma.*– 1998.– № 7 (4).– P. 475–482.
51. *Agarwal H. C.* Effect of changing from concomitant timolol pilocarpine to bimatoprost monotherapy on ocular blood flow and IOP in primary chronic angle closure glaucoma / Agarwal H. C., Gupta V., Sihota R. // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*– 2003.– № 19 (2).– P. 105–112.
52. *Gandolfi S. A.* Effect of brimonidine on intraocular pressure in normal tension glaucoma: a short term clinical trial / Gandolfi S. A., Cimino L., Mora P. // *Eur. J. Ophthalmol.*– 2003.– V. 13, № 7.– P. 611–615.
53. Administration of the fixed combination of Latanoprost 0,005 % and Timolol 0,5 % in patients with over 30 mm Hg IOP / Y. B. Ozkurt, S. Kurna, T. Sengor, T. Evciman // *Book of abstracts 6th Glaucoma symposium.*– Athens, 2007.– P. 128.
54. *Martines A.* A four week prospective, randomized, evaluator-masked study of Latanoprost/Timolol compared to Bimatoprost/Timolol fixed combinations in patients with POAG / A. Martines, M. A. Sanchez // *Book of abstracts 6th Glaucoma symposium.*– Athens, 2007.– P. 127.
55. Bimatoprost/Timolol fixed combination: one-year double-masked, randomized parallel comparison to its individual components in patients with glaucoma or ocular hypertension / Brandt D., Gross R., Sahl K. [et al.] // *Book of abstracts World Glaucoma Congress.*– Singapore, 2007.– P. 174.
56. *Nixon D.* Randomized, parallel comparison of the efficacy and tolerability of twice-daily Combigan vs Cosopt fixed-combination therapies in patients with glaucoma or ocular hypertension / Nixon D. // *Book of abstracts World Glaucoma Congress.*– Singapore, 2007.– P. 171.
57. *Larsson L. I.* A 12-week, randomized, double-masked multicenter study of the fixed-combination Latanoprost and Timolol in the evening vs. the individual components / L. I. Larsson, M. Diestelhorst // *Book of abstracts World Glaucoma Congress.*– Vienna, 2005.– P. 162.
58. *Bacharach J.* Comparison of efficacy of the fixed-combination timolol/dorzolamide versus concomitant administration of timolol and dorzolamide / Bacharach J., Delgado M. F., Iwach A. G. // *Ocul. Pharm. Ther.*– 2003.– V. 19.– P. 93–96.



59. *Ozturk F.* Comparison of the ocular hypotensive effects of bimatoprost and imololdorzolamide combination in patients with elevated intraocular pressure: a 6-month study / Ozturk F., Ermis S. S., Inan U. U. // *Acta Ophthalmol. Scand.*– 2007.– V. 85.– P. 80–83.
60. *Kazakova D. D.* Efficacy of Dordolamide 2 % Timolol 0,5 % combination (Cosopt) versus Latanoprost 0,005 % (Xalatan) in the treatment of POAG patients / Kazakova D. D. // *Book of abstracts 6th Glaucoma symposium.*– Athens, 2007.– P. 130.
61. *Martinez A.* Intraocular pressure lowering effect of dorzolamide/timolol fixed combination in patients with glaucoma who were unresponsive to prostaglandin analogs/prostamides / A. Martinez, M. Sanchez // *Cur. Med. Res. Opin.*– 2007.– V. 23.– P. 595–600.
62. Medical interventions for primary open angle glaucoma and ocular hypertension / Vass C., Findl O., Sycha T. [et al.]. // *Cochrane Database of Systematic Reviews.*– 2004.– Issue 3: CD003167.
63. Latanoprost vs combined therapy with timolol plus dorzolamide in open-angle glaucoma: A 24-month study / Polo V., Larrosa J. M., Ferreras A., Honrubia F. M. // *Annals of Ophthalmology.*– 2005.– № 37 (1).– P. 33–36.
64. Efficacy of the latanoprost versus timolol/dorzolamide combination therapy in patients with primary open angle glaucoma / Rismanchian A, Eslami F, Moeini H. [et al.] // *Saudi Med J.*– 2008.– V. 29 (3).– P. 384–7.
65. *Pajic B.* A comparison of the fixed combination of Dorzolamide and Timolol with the fixed combination of Latanoprost and Timolol in patients with elevated intraocular pressure. A 3 year follow-up, non-randomized study / B. Pajic, B. Pajic-Eggspuehler // *Book of abstracts World Glaucoma Congress.*– Vienna, 2005.– P. 158.
66. Efficacy and safety of the fixed combination latanoprost/timolol versus dorzolamide/timolol in patients with elevated intraocular pressure / Shin D. H., Feldman R. M., Sheu W. P. [et al.] // *Ophthalmology.*– 2004.– V. 111.– P. 276–282.
67. A comparative analysis of the effects of the fixed combination of timolol and dorzolamide versus latanoprost plus timolol on ocular hemodynamics and visual function in patients with primary open-angle glaucoma / Siesky B., Harris A., Sines D. [et al.] // *J. Ocul. Pharm. Ther.*– 2006.– V. 22.– P. 353–362.
68. Evaluation of travoprost as adjunctive therapy in patients with uncontrolled intraocular pressure while using timolol 0.5 % 8 / Orengo-Nania S., Landry T., Von Tress M. [et al.] // *American Journal of Ophthalmology.*– 2001.– № 132 (6).– P. 860–868.
69. Efficacy and tolerability of the dorzolamide 2 %/timolol 0.5 % combination (COSOPT) versus latanoprost 0.005 % (XALATAN) in the treatment of ocular hypertension or glaucoma: results from two randomized clinical trials / Fechtner R. D., Airaksinen P. J., Getson A. J. [et al.] // *Acta Ophthalmol. Scand.*– 2004.– V. 82.– P. 42–48.
70. Timolol/dorzolamide combination therapy as initial treatment for intraocular pressure over 30 mm hg / Henderer J. D., Wilson R. P., Moster M. R. [et al.]. // *J. Glaucoma.*– 2005.– V. 14.– P. 267–270.
71. Comparison of the 24-hour intraocular pressure-lowering effects of latanoprost and dorzolamide/timolol fixed combination after 2 and 6 months of treatment ophthalmology / Konstas A. G. P., Kozobolis V. P., Tsironi S. [et al.] // *Ophthalmology.*– 2008.– V. 115.– P. 99–103.
72. *Martinez A.* A comparison of the effects of 0.005 % latanoprost and fixed combination dorzolamide/timolol on retrobulbar haemodynamics in previously untreated glaucoma patients / A. Martinez, M. Sanchez // *Cur. Med. Res. Opin.*– 2006.– V. 22.– P. 67–73.
73. *Martinez A.* Effects of dorzolamide 2 % added to timolol maleate 0,5 % on intraocular pressure, retrobulbar blood flow, and the progression of visual field damage in patients with primary open-angle glaucoma: a single-center, 4-year, open-label study / A. Martinez, M. Sanchez // *Clin. Ther.*– 2008.– V. 30.– P. 1120–1134.
74. *Pajic B.* Experience with Cosopt, the fixed combination of timolol and dorzolamide, gained in Swiss ophthalmologists offices / Pajic B. // *Cur. Med. Res. Opin.*– 2003.– V. 19.– P. 95–101.

### **Е. В. Кривовяз**

#### **Фармакотерапия глаукомы: современное состояние проблемы**

Вопрос фармакотерапии глаукомы заслуживает все более внимательного изучения в связи с появлением новых фармацевтических препаратов, поскольку перед врачами остро возникает проблема выбора лекарственного средства. В обзоре обобщены и систематизированы данные литературы в вопросе назначения схем гипотензивной терапии при лечении глаукомы и выбора гипотензивного средства, не только снижающего среднесуточный показатель внутриглазного давления, но и максимально выравнивающего кривую суточных колебаний офтальмотонуса. Кроме того, принятие решения должно основываться на учете побочных эффектов действующих и вспомогательных веществ, противопоказаний к применению препарата у определенного пациента, особенно, принимая во внимание то, что глаукома требует длительного и непрерывного лечения, а пациенты являются преимущественно людьми пожилого возраста.

*Ключевые слова:* глаукома, фармакотерапия

---

---

**O. V. Kryvoviaz**

**Glaucoma pharmacotherapy: status update of the problem**

The issue of glaucoma pharmacotherapy deserves more careful study since practicing physicians experience challenging problem of drug choice as scientists create new pharmaceutical products. This review presents a summary of publications data which could help us to decide between antihypertensive therapeutic regimens for treatment of glaucoma and to identify hypotensive agents not only reducing the average intraocular pressure, but also flattening the curve of daily fluctuations of intraocular tension, thus making possible to find the optimal approach to local antihypertensive therapy of glaucoma. The decision making should also involve assessment of side effects of active substances and excipients, and therefore, contraindications in some patients, especially given the fact that glaucoma requires long and continuous treatment. Most patients are elderly individuals with comorbidities that use concomitant drugs, therefore, possible interactions of antiglaucoma drugs with those prescribed by other medical specialists, should be closely scrutinized. The cost of drugs exerts a significant influence on patient adherence to treatment, since the ability to pay for continuous treatment as well as maintaining the instillation parameters is an important factor for preserving visual functions. It was found that patients with primary open-angle glaucoma were mostly prescribed  $\beta$ -blockers instillation, supplemented in case of necessity with  $\alpha$ -agonists, holinergetics, and carbonic anhydrase inhibitors. These drugs reduce the production of aqueous humor and improve its discharge through the trabecular meshwork. Perhaps, a number of drugs that stimulate uveoskleral outflow of aqueous humor have appeared in recent years. These drugs are synthetic analogues of prostaglandins that are widely used nowadays.

*Key words: glaucoma, pharmacotherapy*

---

*Надійшла: 16.10.2013 р.*

**Контактна особа:** Кривов'яз Олена Вікторівна, кандидат фармацевтичних наук, кафедра фармації, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Електронна пошта: SK16124@rambler.ru

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

## Енерготропний механізм церебропротективної дії нового оригінального препарату «Лізиній» за умов моделювання гострого порушення мозкового кровообігу

Запорізький державний медичний університет  
НВО «Фарматрон»

*Ключові слова:* церебральна ішемія, енергетичний метаболізм, Лізиній

Інсульт та хронічні форми судинної мозкової недостатності є однією з найактуальніших проблем сучасної неврології. За епідеміологічними даними захворюваність інсультом у світі складає 150 випадків на 100 тис. населення на рік, що зумовлює велику значущість розробки ефективних засобів захисту від гіпоксії [1]. Фармакологічні засоби, дія яких спрямована на підвищення стійкості організму до дефіциту кисню, почали застосовувати водночас з розвитком уявлень щодо патофізіологічних і біохімічних механізмів пристосування організму до кисневої недостатності [2]. Різноманітність патофізіологічних, біохімічних змін при гіпоксії зумовила застосування як антигіпоксантив фармакологічних сполук різного типу дії, серед яких регулятори гемодинаміки, блокатори кальцієвих каналів, препарати центрального типу дії, стабілізатори мембран, антиоксиданти [2, 3].

Водночас експериментальними та клінічними дослідженнями останнього десятиріччя продемонстровано серед антигіпоксантив перевагу препаратів з метаболітотропним типом дії, здатних попереджати розвиток енергодефіциту та оксидативного стресу [4, 5]. До таких препаратів можна віднести синтезований на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету новий лікарський засіб оригінальної структури – L-лізиній 1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат з робочою назвою «Лізиній», який містить структурні фрагменти тіотріазоліну та L-лізину есцинату. У попе-

редніх дослідженнях *in vivo* та *in vitro* було продемонстровано здатність Лізинію проявляти антиоксидантну та ендотеліотропну дію [6–8].

*Мета дослідження* – вивчення впливу Лізинію на енергетичні ланцюги нейродеструкції за умов моделювання гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК).

*Матеріали та методи.* Експерименти проведено на 50 самцях щурів масою 200–220 г, отриманих з ПП «Біомодель-сервіс». Тривалість карантину становила 14 днів, протягом яких проводили щодобовий огляд кожної тварини (поведінка та загальний стан) [9]. Перед початком дослідження тварин, що відповідали критеріям включення до експерименту, було розподілено на експериментальні групи за допомогою методу рандомізації. Дослідних тварин утримували на однаковому раціоні у звичайних умовах віварію. Їх утримання відповідало правилам Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в наукових дослідженнях (Страсбург, 1986 р.) [9].

Ішемію головного мозку моделювали шляхом двобічної оклюзії загальної сонної артерії. Операцію проводили під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) [10]. Досліджувані препарати вводили внутрішньочеревно, одразу після виходу тварин з-під наркозу протягом 7 днів – Лізиній – у дозі 50 мг/кг [8]; пірацетам (референс-препарат) – у дозі 100 мг/кг [3].

Неврологічний статус оцінювали за шкалою Stroke-index McGrow [10] на 7 добу експерименту після курсового застосування Лізинію та референс-препарату пірацетаму.

По закінченню експерименту тварин наркотизували шляхом введення тіопенталу натрію (40 мг/кг), після чого з черепної коробки вилучали головний мозок.

У тканинах головного мозку досліджували показники енергетичного метаболізму: спектрофотометричним методом визначали вміст лактату, пірувату, креатинфосфату; та хроматографічним – аденілові нуклеотиди [10]. На підставі визначення концентрації АТФ, АДФ, АМФ обчислювали енергетичний заряд аденілової системи (ЕЗ) за формулою:

$$ЕЗ = АТФ + 1/2АДФ / АТФ + АДФ + АМФ.$$

ЕЗ є інтегративним показником та дозволяє оцінювати направленість обмінних процесів у мозковій тканині [10].

Статистичну обробку результатів проводили методами математичної статистики із застосуванням пакетів прикладних програм «Біостатистика для Windows, версія 4.03» і «Microsoft Excel 2002». Для кожної досліджуваної ознаки визначали показники середнього арифметичного (М) і стандартної похибки середнього арифметичного (m). Нормальність розподілу перевіряли за допомогою тесту Колмогорова-Смирнова. За умови відповідності нормальності розподілу вірогідність отриманих розходжень величин, що зіставляються,

оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента. Вірогідність відмінностей відносних величин оцінювали із застосуванням критерію  $\chi^2$ . Статистично значущими вважали відмінності з рівнем значимості більше 95% ( $p < 0,05$ ) [11].

**Результати та їх обговорення.** Головним критерієм оцінки стійкості тканин до екстремальних впливів є стан енергетичного метаболізму, який швидко змінюється за умов ішемії [12]. Проведеними дослідженнями встановлено, що моделювання ішемії супроводжується значними порушеннями енергетичного обміну в головному мозку щурів з ішемією. Після 7 діб оклюзії загальної сонної артерії в тканинах головного мозку підвищувався вміст лактату на 84% на тлі статистично вірогідного зменшення пірувату більш ніж на 79% щодо показників інтактних тварин (табл. 1), що говорить про розвиток метаболічного ацидозу. Гіперлактацидемія свідчить про активацію процесів анаеробного гліколізу – одного з швидких механізмів адаптації до кисневого голодування. Пригнічення гліколізу ацидозом за принципом зворотного зв'язку призводить до неможливості тривалого енергозабезпечення клітини та зменшення енергосинтезуючої функції дихального ланцюга мітохондрій [5, 13, 14]. Унаслідок вищенаведених про-

Таблиця 1

*Показники енергетичного метаболізму у тканинах головного мозку щурів за моделюванням ішемії головного мозку та впливу Лізінію*

Показник	Експериментальні групи			
	Інтактні тварини	Ішемія, 7 доба (контроль)	Ішемія + Пірацетам, 100 мг/кг	Ішемія + Лізіній, 50 мг/кг
Лактат, мкмоль/г	2,110 ± 0,039	13,70 ± 0,71 <sup>#</sup>	7,58 ± 0,51 <sup>*</sup>	3,95 ± 0,39 <sup>*§</sup>
Піруват, мкмоль/г	0,73 ± 0,03	0,15 ± 0,02 <sup>#</sup>	0,38 ± 0,03 <sup>*</sup>	0,51 ± 0,02 <sup>§</sup>
Креатинфосфат, мкмоль/г	5,28 ± 0,06	1,21 ± 0,04 <sup>#</sup>	3,47 ± 0,04 <sup>*</sup>	4,15 ± 0,06 <sup>*§</sup>
АТФ, мкмоль/г	4,12 ± 0,04	1,12 ± 0,02 <sup>#</sup>	3,74 ± 0,11 <sup>*</sup>	3,90 ± 0,14 <sup>*§</sup>
АДФ, мкмоль/г	1,45 ± 0,02	0,520 ± 0,011 <sup>#</sup>	0,87 ± 0,01 <sup>*</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>*§</sup>
АМФ, мкмоль/г	0,410 ± 0,001	0,87 ± 0,04 <sup>#</sup>	0,64 ± 0,03 <sup>*</sup>	0,58 ± 0,03 <sup>*</sup>
Енергетичний заряд аденілової системи	6,150 ± 0,001	3,340 ± 0,002 <sup>#</sup>	5,370 ± 0,001 <sup>*</sup>	5,740 ± 0,002 <sup>*§</sup>

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: <sup>#</sup> $p \leq 0,05$  відносно інтактних тварин; <sup>\*</sup> $p \leq 0,05$  відносно контролю; <sup>§</sup> $p \leq 0,05$  відносно групи пірацетаму.

**Показники неврологічного дефіциту (за шкалою McGrow) у щурів після моделювання ішемії головного мозку та курсового введення Лізинію**

Неврологічний симптом	Інтактні тварини	Ішемія, 7 доба (контроль)	Ішемія + Пірацетам, 100 мг/кг	Ішемія + Лізиній, 50 мг/кг
Сповільненість руху	4 ± 2	85 ± 5 <sup>#</sup>	25 ± 2 <sup>*</sup>	10 ± 2 <sup>*§</sup>
Манежні рухи	0	45 ± 4 <sup>#</sup>	7 ± 2 <sup>*</sup>	3 ± 1 <sup>*§</sup>
Парези 1–4 кінцівок	0	50 ± 3 <sup>#</sup>	10 ± 3 <sup>*</sup>	0
Параліч 1–4 кінцівок	0	25 ± 1 <sup>#</sup>	0 <sup>*</sup>	0

цесів відбувається зменшення рівнів макроергічних фосфатів. Встановлено, що на 7 добу ішемії в головному мозку щурів знижуються вміст креатинфосфату – на 77%; АТФ – на 65%, АДФ – у середньому на 64%, на тлі збільшення кількості АМФ – на 52% та лактату – на 85% (табл. 1). Крім того, на тлі зміни пулу аденілових нуклеотидів відбувалося зниження енергетичного заряду мітохондрій, що свідчить про розвиток енергодефіциту та зниження енергетичного потенціалу головного мозку тварин контрольної групи.

Таким чином, ішемія головного мозку у тварин контрольної групи супроводжувалася типовими метаболічними змінами гіпоксичного генезу, лактацидозом та зменшенням умісту макроергічних фосфатів у тканинах головного мозку.

Порушення енергетичного метаболізму головного мозку експериментальних тварин призводило до розвитку неврологічного дефіциту, що характеризувався тяжким та середньотяжким перебігом церебральної ішемії. Так, на 7 добу експерименту в щурів контрольної групи спостерігали сповільненість руху (85%); манежні рухи (45%); парези (50%); параліч (25%) (табл. 2). При цьому, смертність у контрольній групі тварин складала 68% (табл. 3).

Курсове призначення референт-препарату пірацетаму та Лізинію призводило до того, що в тканинах головного мозку реєстрували зниження концентрації молочної кислоти. Так, при введенні пірацетаму та Лізинію зменшення вмісту лактату складало в середньому

45% та 71% відповідно, стосовно тварин контрольної групи (табл. 1). Паралельно з цим підвищувався вміст пірувату та креатинфосфату – ключового енергетичного субстрату головного мозку. Позитивний вплив досліджуваних препаратів був встановлений й при дослідженні вмісту аденілових нуклеотидів. Курсове призначення пірацетаму та Лізинію призводило до підвищення рівня АТФ у середньому на 70% та АДФ – на 40% та 54% відповідно; та зменшення концентрації АМФ. Нормалізація під впливом досліджуваних препаратів аденілового пулу призводила до збільшення ЕЗ аденілового пулу. Найвираженіший ефект продемонстрував Лізиній, який збільшував ЕЗ у середньому на 42% щодо контролю.

Покращання енергетичного метаболізму під дією досліджуваних препаратів призводило до зменшення проявів неврологічних порушень. Так, на тлі призначення пірацетаму (100 мг/кг) та

Таблиця 3

**Вживаність тварин на 7 добу після моделювання ішемії головного мозку та курсового введення Лізинію**

Група тварин	Вживаність тварин, %
Інтактні тварини	100
Ішемія, 7 доба (контроль)	32 ± 2
Ішемія + Пірацетам, 100 мг/кг	54 ± 4 <sup>*</sup>
Ішемія + Лізиній, 50 мг/кг	67 ± 3 <sup>*#</sup>

Лізинію (50 мг/кг) у 25% та 10% щурів відповідно спостерігалася сповільненість руху, у 7% та 3% – маневрні рухи; у 10% – парези кінцівок, на тлі призначення Лізинію парези кінцівок не спостерігали (табл. 2). Важливо зазначити, що на тлі введення пірацетаму на 7 добу після моделювання ішемії головного мозку виживаність тварин складала 54%; на тлі введення Лізинію – 67% (табл. 3).

Таким чином, проведеними експериментальними дослідженнями встановлено енерготропна активність Лізинію за умов гострої ішемії головного мозку. Встановлено, що курсове призначення Лізинію впливало на всі ключові інтермедіати енергообміну, а саме, зменшувалася вміст молочної кислоти, підвищувалася концентрація пірувату та креатинфосфату, нормалізувалося співвідношення АТФ/АДФ/АМФ та збільшувався енергетичний заряд мітохондрій. Енерго- та нейротропна дія Лізинію проявлялася зменшенням вираженості неврологічної симптоматики. Енерготропний механізм нейротропної дії препарату «Лізиній» пояснюється, на нашу думку, декількома обставинами. По-перше, Лізиній має виражену антиоксидантну активність, що показано в наших попередніх дослідженнях [6–8]. Антиоксидантна активність сприяє запобіганню окисної деструкції білків дихального ланцюга мітохондрій в умовах розвитку оксидативного стресу при ішемії головного мозку. По-друге, завдяки наявності в

молекулярній структурі Лізинію вільних SH-груп досліджуваний препарат здатний запобігати відкриттю мітохондріальної пори та запобігати розвитку мітохондріальної дисфункції. Крім того, завдяки SH-групам Лізиній здатний бути редокс-буфером клітини, що забезпечує відновлення SH-груп ферментів енергозабезпечення мітохондрій при їхньому окисненні [7]. У зв'язку з цим дефіцит гіолового редокс-контролю активності ферментів за умов оксидативного стресу цілком може бути компенсований завдяки стабілізуючому впливу Лізинію. По-третє, Лізиній здатен впливати на синтез цитопротективних HSP-білків, що було раніше встановлено в дослідях *in vivo* та *in vitro* [6–8]. Подібні ефекти Лізинію реалізуються, головним чином, за рахунок його антиоксидантної активності, що перешкоджає окисній модифікації HSP-білків, тим самим подовжує термін їхнього функціонування [15]. Відомо, що HSP-білки за умов дефіциту кисню виконують протективну функцію відносно індукційного фактора гіпоксії (HIF), який координує «запуск» компенсаторних реакцій організму [15, 16]. Ці обставини, на нашу думку, пояснюють й більш виражену активність Лізинію порівняно з референс-препаратом пірацетамом.

Подібна спрямованість дії Лізинію є експериментальним обґрунтуванням його застосування в клінічній практиці як ефективного нейропротектора у комплексній терапії гострого порушення мозкового кровообігу.

1. Дубенко О. Є. Причини і наслідки лакунарних інсультів головного мозку / О. Є. Дубенко, Г. Є. Костровська, С. Л. Костровський // Укр. неврологічний журнал. – 2007. – № 1. – С. 7–10.
2. Верещагин Н. В. Инсульт. Принципы диагностики, лечения и профилактики / Н. В. Верещагин, М. А. Пирадов, З. А. Суслина. – М.: Интермедика, 2002. – 208 с.
3. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – М.: Медицина, 2011. – 321 с.
4. Scott V. Oxidative stress, oxidants and antioxidants / V. Scott, O. Auroma // Exp. Physiol. – 1999. – V. 8, № 6. – P. 291–295.
5. Беленічев І. Ф. Механізми формування ішемічної нейродеструкції: співвідношення оксиду азоту і тіолдисульфідної системи як фактор, що визначає тип загибелі нейрону / І. Ф. Беленічев, С. В. Павлов // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 11–16.
6. Павлов С. В. Мітопротективна дія тіольних антиоксидантів в умовах моделювання нітрозуючого стресу *in vitro* / С. В. Павлов // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2011. – № 2. – С. 95–97.
7. Беленічев І. Ф. Деякі механізми ендотеліопротективної дії нового оригінального препарату лізинію в умовах експериментального ішемічного пошкодження головного мозку / І. Ф. Беленічев, С. В. Павлов, А. В. Абрамов // Одеський медичний журнал. – 2011. – Т. 2 (124). – С. 21–24.
8. Ефекти нового ендотеліопротектора «Лізиній» на систему глутатіону та NO-синтазну активність у головному мозку за умов гострої церебральної ішемії / І. Ф. Беленічев, С. В. Павлов, І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 3 (22). – С. 40–46.
9. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / О. В. Стефанов. – К.: «Авіцена», 2002. – 527 с.



10. Чекман И. С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев.– К.: ДФЦ МОЗ України, 2010.– 81 с.
11. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич.– К.: МОРИОН, 2002.– 640 с.
12. Coca A. Cerebral involvement in hypertensive cardiovascular disease / A. Coca // Eur. Heart J.– 2003.– № 5.– Р. 19–25.
13. Ливанов Г. А. Нарушение транспорта кислорода при острых отравлениях нейротропными препаратами и его метаболическая коррекция / Г. А. Ливанов, Б. В. Батоцыренов, С. И. Глушков // Междунар. неврол. журн.– 2002.– Т. 1.– С. 33–36.
14. Рациональная нейропротекция / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Ю. М. Колесник, С. В. Павлов.– Донецк: Издательский дом Заславский, 2009.– 348 с.
15. Transgenic mice expressing the human inducible Hsp70 have hippocampal neurons resistant to ischemic injury / J. C. Plumier, A. M. Krueger, R. W. Currie, D. Kontoyiannis // Cell Stress Chaperones.– 1997.– № 2.– Р. 162–167.
16. Беленичев І. Ф. Нейропротективний профіль селективних модуляторів естрогенових рецепторів на моделі гострого порушення мозкового кровообігу / І. Ф. Беленичев, С. В. Павлов // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2011.– № 6.– С. 10–15.

**И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов, Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур**  
**Энерготропный механизм церебропротекторного действия нового оригинального препарата «Лизиний» в условиях моделирования острого нарушения мозгового кровообращения**

Экспериментальными исследованиями установлены энерготропные механизмы церебропротективного действия нового оригинального препарата «Лизиний» в условиях моделирования острого нарушения мозгового кровообращения, проявляющегося по типу ишемического инсульта. Курсовое назначение Лизиния (50 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней) животным с ишемией головного мозга приводило к усилению аэробной продукции АТФ, нормализации функционирования цикла Кребса, снижению метаболического ацидоза. Позитивное действия Лизиния на энергетический метаболизм проявлялось уменьшением неврологического дефицита (шкала McGrow) на 4 сутки эксперимента. По силе церебропротекторного действия Лизиний статистически достоверно превосходил референс-препарат пирацетам.

*Ключевые слова:* церебральная ишемия, энергетический метаболизм, Лизиний

**I. Belenichev, S. Pavlov, L. Kucherenko, I. Masur**  
**Energotropic mechanism of the cerebroprotective action of the new original medication «Lisinyi» on the model of the acute cerebral circulation insufficiency**

Cerebral ischemia and chronic forms of the vascular insufficiency till this time remain one of the actual problems in the neurology. Epidemiological data shows that cerebral ischemia morbidity is 150 cases per 100 hundred persons per year. This makes big value of the ways of the effective protection against hypoxia. There was new medical compound with original structure – L-lisinyi 1,2,4-triazolol-5-thyoacetate with primary name Lisinyi created at the pharmaceutical chemistry department of the Zaporizhzhia state medical university. Lisinyi includes fragments of the tyotriazoline and L-Lisinyi escinate. The aim of the study was to assess the influence of the Lisinyi on the energetic chains of the neurodestruction in the conditions of the acute cerebral ischemia modelling. Cerebral ischemia was modelled in the way of the double occlusion of the carotids. Parameters of the energetic metabolism were studied in the brain. Lactate, pyruvate, phosphocreatine levels were determined with spectrophotometry, adenylic nucleotids – with chromatography. Energetic charge was estimated using the level of the ATP, ADP, AMP. Experimental study showed energotropic activity of the Lisinyi following the acute cerebral ischemia. It was founded that the Lisinyi administration influenced on all key mediators of the energetic metabolism, decreased level of the lactate acid, increased level of the pyruvate and phosphocreatine, normalised ATP/ADP/AMP ratio. Treatment with Lisinyi increased energetic charge of the mitochondria. Energo- and neutotropic action of the Lisinyi manifested in the neurologic symptoms decrease. Energotropic action of the Lisinyi was explained in several ways. On the one hand Lisinyi has antioxidant activity as it has been showed in our previous studies. This activity allows Lisinyi to prevent oxide destruction of the proteins of the mitochondrion respiration chain in the condition of the oxidative stress in cerebral ischemia. On the other hand, free SH-groups in the Lisinyi structure allow to predict opening of the mitochondrial pore and to prevent mitochondrial dysfunction. These facts show Lisinyi potency as effective neuroprotector in complex therapy of the cerebral ischemia.

*Key words:* cerebral ischemia, energetic metabolism, Lisinyi

Надійшла: 14.05.2013 р.

**Контактна особа:** Павлов Сергій Васильович, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: +38 0 97 797 08 84.  
 Електронна пошта: zsmu.smu@yandex.ua.



В. Б. Ларіонов, О. А. Федорова, М. Я. Головенко

## Аналіз проникності гематоенцефалічного бар'єра для нижчих аліфатичних спиртів на основі фармакодинамічних і нейротоксичних ефектів

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

*Ключові слова:* аліфатичні спирти, нейротоксичність, фармакодинамічний ефект, гематоенцефалічний бар'єр

Гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) є дифузійним бар'єром, що відіграє значну роль у функціонуванні центральної нервової системи (ЦНС). Клітини ГЕБ характеризуються міцними міжендотеліальними зв'язками, відсутністю пор та фенестр між ендотеліоцитами, суцільною базальною мембраною, що відрізняє їх від аналогічних структур інших тканин та органів. Щільні між-ендотеліальні контакти неущкодженого ГЕБ обмежують дифузію в мозок частинок більше 10–15 нм у діаметрі. Розмір молекули й конфігурація лікарського засобу, її зв'язок з білками плазми, розчинність у ліпідах і ступінь іонізації при відповідному рН біологічної рідини значною мірою визначають проникність. Розчинні в ліпідах спирти та етери швидко транспортуються крізь ГЕБ, тоді як іонізовані полярні лікарські речовини є майже непроникливіми. Ліки з кислотними або лужними властивостями містяться в плазмі крові в іонізованій та неіонізованій формі в різних пропорціях. Відсотковий уміст кожної з цих форм залежить від рН крові та константи дисоціації сполук. При рН крові 7,40 і рН ліквору 7,32 ГЕБ легко пропускає слабкі луги [1, 2].

Останніми роками на зміну кольоровим реакціям (трипановий синій, фероціаністий натрій, йодистий калій) для вивчення ГЕБ широко застосовують нові методи дослідження: фізико-хімічні, гістологічні, біохімічні тощо [3]. Особливого значення набуло комп'ютерне моделювання, що ґрунтується на використанні масивів експерименталь-

них даних та кореляції показників надходження речовин у мозок з їхніми фізико-хімічними показниками [4]. Ці методи дають можливість кількісно оцінити проникність різних хімічних речовин у ЦНС і зміну процесу залежно від стану організму та впливу на нього хімічних, фізичних і біологічних, а також патологічних чинників.

Ми вважаємо, що не менш інформативними щодо властивостей ГЕБ можуть бути експериментальні дані нейрофармакологічної та нейротоксичної дії біологічно активних сполук, які можуть бути зареєстровані різними методами.

*Мета дослідження* – вивчення механізмів розвитку швидкооборотних ГАМК<sub>A</sub>-опосередкованих фармакодинамічних і токсичних ефектів нижчих аліфатичних спиртів та встановлення залежності процесу від ступеня їхнього надходження до ЦНС.

*Матеріали та методи.* Досліди було проведено на білих мишах-самцях (20–25 г), яких утримували відповідно до міжнародних та національних біоетичних рекомендацій на стандартній лабораторній дієті за природного світлового циклу з вільним доступом до води та депривацією їжі за 12 год до початку експерименту. Уведення речовин здійснювали групам тварин (по 5–6 особин). У роботі було використано нижчі аліфатичні спирти (метанол, етанол, н-пропанол та н-бутанол) та їхні радіоактивні <sup>14</sup>C-аналоги, які вводили інтрагастрально або внутрішньоочеревинно (у розчині 0,9% NaCl) за певний проміжок часу (5 хв – 24 год) до кількісної оцінки фармакологічних ефектів. Порушення координації рухів та рівноваги оцінювали за методом «стрижня, що обертається» (діаметр 2 см, швид-

кість обертання 5 об/хв), снодійний ефект – за латентним періодом та тривалістю бокового положення, викликаного аліфатичними спиртами [5]. Гостру токсичність сполук оцінювали за методом Кербера [8]. Порогові дози чутливості тварин (*in vivo*) до судомних агентів (бікукулін, пентаметилентетразол) визначали за їхньої внутрішньовенної інфузії та реєстрації мінімальних ефективних доз (ЕД, мг/кг), що викликають компоненти судомного нападу – клоніко-тонічні судоми (ДКТС) та тонічну екстензію (ДТЕ) [9]. Оцінку показника ефекту проводили в кількісній формі (градуїрована форма обліку).

Уміст радіоактивного матеріалу в крові та головному мозку тварин визначали методом рідинної сцинтиляційної фотометрії. Знебарвлену (1–2 краплі  $H_2O_2$ , 30%) кров (аліквота 0,2–0,5  $cm^3$ ) чи гомогенату головного мозку (1:4 маса:об'єм, у ізотонічному розчині NaCl, аліквота 0,4–0,6  $cm^3$ ) переносили до сцинтиляційних флаконів, додавали 10  $cm^3$  ксилільно-спиртового сцинтилятора та визначали кількість радіоактивності на рідинному лічильнику Canberra Packard TRI-CARB 2700. Питомий вміст розраховували на одиницю маси (об'єму) органу чи тканини.

Дані оброблені статистично за допомогою стандартного пакета програм MS Excel та представлені у вигляді  $M \pm m$  (середнє та стандартне відхилення від середнього вибірки,  $n$  – кількість тварин у групах). Статистичну значущість розбіжностей було оцінено за критерієм Стьюдента ( $t$ ), статистичний аналіз проведено із використанням однофакторного дисперсійного аналізу.

**Результати та їх обговорення.** Оскільки прояв фармакологічної та нейротоксичної дії в більшості випадків корелює із концентрацією активної речовини в біофазі дії, то даний показник може бути зручним тестом для визначення ступеня проникності сполуки, що вивчається, крізь ГЕБ [7–9]. Фармакодинамічний метод визначення ступеня надходження речовин до мозку ґрунтується на взаємозв'язку між його ефектом та концентрацією, що зазвичай описується сигмоїдною моделлю:

$$E_i = E_{\text{contr}} + \frac{E_{\text{max}} + C^h}{EC_{50}^h + C^h}, \quad (1)$$

де  $E_{\text{contr}}$  та  $E_i$  – протисудомний ефект (у мг/кг бікукуліну), що спостерігається в контролі та при введенні дози агоніста  $i$ ,  $E_{\text{max}}$  – величина максимального ефекту,  $C_i$  – доза, що вводиться,  $EC_{50}$  – концентрація агоніста, при якій спостерігається напівмаксимальний ефект,  $h$  – коефіцієнт Хілла, що визначає порядок рівняння. Необхідні параметри  $E_{\text{max}}$  та  $EC_{50}$  визначаються з попередніх експериментів, у яких встановлюють максимальний ефект та концентрацію в біофазі дії, або в експериментах *in vitro* за визначенням ступеня рецептор-лігандного зв'язування:

$$E_{\text{max}} = \frac{E_m \tau^h}{\tau^h + 1}. \quad (2)$$

Параметр ефективності  $\tau$  відображує кількість рецепторів ( $R_0$ ), що окуповані при напівмаксимальній величині ефекту ( $\tau = R_0/K_E$ ) [13]. Основною вимогою, що обмежує використання цього методу, є наявність в експерименті швидкооборотних фармакологічних ефектів, залежних від концентрації активної речовини в біофазі дії. В іншому випадку зсув прояву фармакологічного ефекту в часі може призвести до отримання занижених даних щодо проникності ГЕБ. Окрім того, метод може бути обмежено використаний при вивченні речовин, що порушують структуру ГЕБ, оскільки деякі з них можуть бути синергістами або антагоністами, впливаючи на величину афінітету та  $E_{\text{max}}$ , а також при різних патологіях ЦНС, які впливають на розвиток та величину ефекту, що реєструється. З іншого боку, даний метод використовує безпосередньо величину фармакологічної дії, указуючи на здатність сполуки долати ГЕБ та викликати необхідну дію.

Різний механізм транспорту речовин крізь ГЕБ обумовлює ступінь їхнього надходження до головного мозку. З цього боку нашу увагу привернули низькомолекулярні сполуки (аліфатичні спирти), надходження яких до ЦНС здійснюється переважно

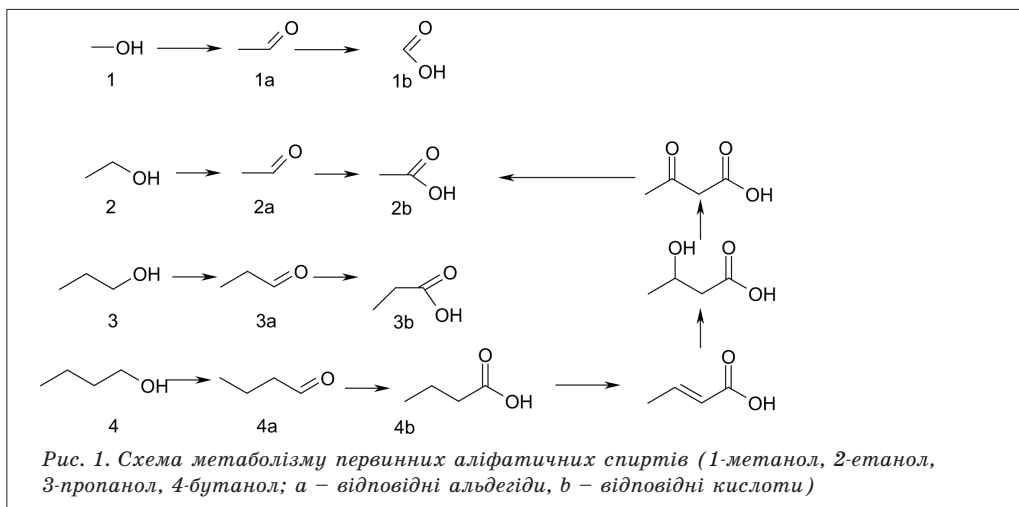
міжклітинною дифузією за градієнтом концентрації. З традиційної точки зору, ключовий компонент механізму психотропної дії аліфатичних спиртів полягає в зміні під впливом цих ліпофільних сполук фізико-хімічних властивостей та функціональних характеристик нейрональних мембран, які призводять до різноманітних порушень ЦНС [14, 15], залежних від величини їхньої ліпофільності [16]. З іншого боку, низку психотропних ефектів етанолу можна уявити як ланцюг специфічних функціональних (а відповідно й нейрохімічних) порушень ЦНС, що закономірно змінюють одне одного залежно від дози. Найхарактернішими з них є анкіолітична, міорелаксаційна, снодійна та наркотична дії. Утім, для оцінки загальної нейротоксичної дії аліфатичних спиртів, зумовленої ступенем їхнього надходження крізь ГЕБ до головного мозку, було визначено дози, що викликають порогові (летальний ефект) та підпорогові (міорелаксаційний) ефекти.

Оцінка летального ефекту аліфатичних спиртів дозволяє оцінити неспецифічну та інтегральну дію на організм, і вона не враховує прояви віддалених ефектів (метаболізм, вплив на біохімічні реакції, різні види гістотоксичності). При визначенні  $LD_{50}$  аліфатичних спиртів (інтрагастральне введення) на мишах встановлено (табл. 1), що для нижчих аліфатичних спиртів окрім метанолу величина середньої летальної дози, що визначена через 6 год та 24 год після введення, не зазнає статистично достовірних змін. Це співпадає з даними про те, що токсична дія метанолу реалізується не за рахунок вихідної речовини [17, 18], а є наслідком накопичення його метаболітів (рис. 1), що визначає значний внесок у його токсичну дію біотрансформаційного впливу та потребує тривалого часу для утворення та накопичення метаболітів [19, 20]. Так, з  $7,17 \pm 0,40$  г/кг показник  $LD_{50}$  метанолу знижується до  $1,4 \pm 0,2$  г/кг. Інші спирти, навпаки, мають близькі шляхи метаболізму (окиснення

Таблиця 1

*Летальні дози аліфатичних спиртів ( $LD_{50}$ ), визначені через 6 год та 24 год після їхнього інтрагастрального введення,  $M \pm m$ ,  $n = 5$*

Спирт	$LD_{50}$ , мг/кг	
	6 год	24 год
Метанол	$7,17 \pm 0,40$	$1,40 \pm 0,20$
Етанол	$10,15 \pm 0,51$	$11,36 \pm 0,75$
Пропанол	$3,20 \pm 0,18$	$3,20 \pm 0,24$
Бутанол	$2,80 \pm 0,55$	$3,60 \pm 0,60$



до відповідних альдегідів та кислот), що каталізуються відповідно алкогольдегідрогеназою та альдегіддегідрогеназою. Частково підвищення величини  $LD_{50}$  для аліфатичних спиртів C2–C4 обумовлене також накопиченням оцтової кислоти (ключова сполука в багатьох біохімічних реакціях, рис. 1) та пропіонату, які призводять до метаболічного ацидозу. У випадку бутанолу зазначений процес ускладнюється утворенням проміжних продуктів метаболізму ( $\beta$ -гідроксимаєляної та кетооцтової кислот).

Якщо летальний ефект аліфатичних спиртів є інтегральною характеристикою токсичності, то розвиток побічної міорелаксантиї дії визначає їхні специфічні нейротоксичні ефекти, і вона реєструється при введенні етанолу та метанолу мишам у дозах вищих за 2 г/кг, та бутанолу – у дозах більше 1 г/кг. Отримана нами графічна сигмоїдна залежність «доза-ефект» дозволила визначити величини ефективних доз ( $ED_{50}$ , табл. 2). Ефект визначається вже через 5 хв після введення спиртів та сягає максимального в інтервалі 5 хв – 6 год. Характерною особливістю є сильна та тривала м'язово-розслаблююча дія етанолу та метанолу та відносно низький ефект пропанолу та бутанолу. Співставлення показників  $ED_{50}$  аліфатичних спиртів продемонструвало логарифмічну залежність підвищення їхньої міорелаксантиї дії зі зростан-

ням аліфатичного радикалу, що співпадає з даними літератури [21, 22]. Однак при вивченні залежності «доза-ефект» та оцінці величин  $ED_{50}$  токсичної дії аліфатичні спирти можна розташувати в ряд «етанол < метанол < пропанол < бутанол».

Отже, летальна дія аліфатичних спиртів реалізується за рахунок впливу їхніх метаболітів (метаболічний ацидоз, утворення шифових луг, формілювання реакційно здатних груп біологічних макромолекул тощо), а не опосередкована лише рівнем рецептор-лігандної взаємодії. Навпаки, їхня нейротоксична дія має характерні ознаки рецептор-опосередкованого механізму, про що свідчить сигмоїдний характер залежності «доза-ефект» та зміна ефекту в гомологічній низці.

Дослідження останніх років показало [23], що важливу роль у механізмах реалізації етанолу відіграє ГАМК-бенздіазепін-Cl-іонофорний комплекс. Взаємодію спирту з цим рецепторним комплексом експериментально доведено фактом посилення транспорту  $^{36}Cl$  у синаптонейросомах, потенціюванням етанолом дії мусцимолу [24], а також залежністю основних ефектів та токсичної дії етанолу від його дози [25, 26]. Це дає змогу розглядати ГАМК<sub>A</sub>-рецепторний ансамбль як ключову точку в регулюванні та розвитку ефектів центрального генезу не тільки етанолу, але й споріднених аліфатичних

Таблиця 2

*Величина  $ED_{50}$  міорелаксантиї дії спиртів після їхнього інтрагастрального введення мишам,  $M \pm m$ ,  $n = 6$*

Час	Метанол	Етанол	Пропанол	Бутанол
5 хв	5,2 ± 0,5	2,7 ± 0,3	2,1 ± 0,3	2,1 ± 0,4
10 хв	4,6 ± 0,6	2,9 ± 0,3	1,8 ± 0,2	2,0 ± 0,3
30 хв	3,8 ± 0,4	3,5 ± 0,2	1,6 ± 0,2	2,1 ± 0,4
1 год	3,5 ± 0,4	3,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1	2,2 ± 0,4
2 год	3,3 ± 0,4	-	-	2,1 ± 0,3
3 год	3,4 ± 0,4	-	2,3 ± 0,3	2,5 ± 0,3
4 год	3,4 ± 0,4	3,0 ± 0,2	3,1 ± 0,3	2,7 ± 0,4
5 год	3,7 ± 0,4	-	3,3 ± 0,3	-
6 год	-	-	-	3,1 ± 0,4
7 год	-	2,7 ± 0,2	3,1 ± 0,2	3,1 ± 0,5
24 год	-	-	-	1,6 ± 0,2

спиртів та провести фармакологічний аналіз нейротоксичних ефектів цієї групи сполук.

Цінна інформація з функціонування ГАМК<sub>A</sub>-рецептора за умов *in vivo* може бути отримана при використанні експериментальної моделі, що базується на внутрішньовенній інфузії антагоністів (бікукулін) або зворотних агоністів. При цьому спостерігається розвиток збудження ЦНС, яке проявляється в різних компонентах судомного нападу, та реєструються дози судомного агента, що викликають клонічні судоми (ДКТС) та тонічну екстензію (ДТЕ). Значною перевагою цього методу є те, що ці ефекти є швидкооборотними, а вказані дози судомних агентів визначаються станом організму в конкретний момент та є оптимальними для вивчення протисудомного ефекту та залежностей «доза-ефект» агоністів ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу. За антагонізму з бікукуліном профіль кривих «доза-ефект» агоністів ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу має гіперболічний характер першого порядку та може бути описаний наступним рівнянням:

$$E_i - E_{\text{contr}} = \frac{C_i E_{\text{max}}}{C_{50} + C_i}, \quad (3)$$

де  $E_{\text{contr}}$  та  $E_i$  – протисудомний ефект (у мг/кг бікукуліну), що спостерігається в контролі та при введенні агоніста,  $E_{\text{max}}$  – величина максимального ефекту,  $C_i$  – концентрація в біофізі дії,  $C_{50}$  – концентрація агоніста в біофізі дії, при якій спостерігається напівмаксималь-

ний ефект. Зазначена залежність дає змогу охарактеризувати та кількісно оцінити агоністичну дію спиртів, як величину коефіцієнтів їхньої лінійної регресії в подвійних зворотних координатах із урахуванням кількості атомів вуглецю в аліфатичному радикалі.

При визначенні нормованих коефіцієнтів регресії ( $D_n/D_{\text{max}}$ ) протисудомних ефектів аліфатичних спиртів встановлено, що всі вони мають протисудомну дію щодо бікукуліну, а залежність ефекту від кількості атомів вуглецю в аліфатичному радикалі збільшується в низці «метанол-етанол-бутанол-пропанол» та є нелінійною (рис. 3). Паралельне визначення вмісту радіоактивного матеріалу в головному мозку та плазмі крові мишей, яким було введено <sup>14</sup>C-аліфатичні спирти в еквімолярних дозах з метою визначення ступеня їхнього надходження крізь ГЕБ, виявило, що ці сполуки мають різну здатність надходити до головного мозку (де й реалізується центральна нейротоксична дія, табл. 2, 3; для певних інтервалів часу визначення міорелаксанта дії не проводилось у зв'язку зі значним розвитком вторинного токсичного ефекту та впливом на міорелаксанта ефект, що реєструється). Так, для бутанолу, який є найліпофільнішим ( $\log P = 0,74$ ), співвідношення його концентрацій у мозку та крові дорівнює  $0,70 \pm 0,16$ , тоді як для більш гідрофільного етанолу ( $\log P = -0,38$ ) воно складає  $0,78 \pm 0,12$ , що демонструє його більшу здатність долати ГЕБ. Слід відмітити, що коливання

Таблиця 3

*Співвідношення концентрацій <sup>14</sup>C-аліфатичних спиртів «головний мозок/плазма крові» після їхнього введення мишам в еквімолярних дозах, 20 ммоль/кг,  $M \pm m$ ,  $n = 5$*

Час	Метанол	Етанол	Пропанол	Бутанол
5 хв	0,31 ± 0,02	0,65 ± 0,10	0,75 ± 0,09	0,80 ± 0,17
15 хв	0,34 ± 0,02	0,67 ± 0,08	0,79 ± 0,12	0,89 ± 0,30
30 хв	0,33 ± 0,02	0,82 ± 0,07	0,83 ± 0,11	0,62 ± 0,05
1 год	0,31 ± 0,02	0,85 ± 0,08	0,95 ± 0,15	0,73 ± 0,09
2 год	0,31 ± 0,03	0,78 ± 0,09	0,90 ± 0,08	0,88 ± 0,25
4 год	0,32 ± 0,04	0,81 ± 0,21	0,77 ± 0,09	0,47 ± 0,09
6 год	0,33 ± 0,03	0,75 ± 0,14	0,71 ± 0,08	0,67 ± 0,14
Середнє	0,32 ± 0,03	0,78 ± 0,12	0,81 ± 0,11	0,70 ± 0,16

цього показника для бутанолу протягом експерименту є більш значними, вказуючи, ймовірно, на високу швидкість масообміну між ліпофільними структурами ГЕБ та кров'ю, з якої відбувається його елімінація. Метанол з цієї низки спиртів має найменше значення співвідношення «мозок/плазма» не тільки завдяки високій гідрофільності ( $\log P = -0,968$ ), але й високій полярності, внаслідок цього відбувається його асоціація з молекулами води та утворення великих кластерів, що менше здатні до пасивної дифузії крізь ліпофільні структури ГЕБ. Це підтверджується й тим, що власне метанол характеризується малим токсичним ефектом (табл. 1), на відміну від його токсичного метаболіту – формальдегіду та у подальшому – форміату. У той самий час,

метанол як ліганд ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу викликає нейротоксичну дію, що реалізується ефектом міорелаксації та антагонізмом з бікукуліном (табл. 3).

Постає питання, чи є протисудомний ефект аліфатичних спиртів рецептор-специфічним або він реалізується нерецепторним шляхом (порушенням у фізико-хімічному середовищі, підвищенням текучості мембран ГАМК<sub>A</sub>-репрезентуючих клітин тощо). Для встановлення можливої локалізації дії аліфатичних спиртів було визначено протисудомний ефект одного з представників – етанолу за антагонізмом із судомними агентами, що мають різні місця зв'язування з ГАМК<sub>A</sub>-рецептором – коразолом, бікукуліном та пікротоксином (табл. 4).

Таблиця 4

*Мінімальні ефективні дози судомних агентів після введення етанолу в дозах, що зростають, мг/кг,  $M \pm m$ ,  $n = 5$*

Доза етанолу, г/кг	ДКТС	ДТЕ
<i>Коразол</i>		
0 (контроль)	70,8 ± 3,5	105,3 ± 5,4
1,0	85,7 ± 3,5*	122,1 ± 5,2
1,5	93,5 ± 5,4**	149,6 ± 5,3*
2,0	110,4 ± 7,8**	194,7 ± 15,9**
2,5	134,1 ± 7,9**	221,7 ± 14,1**
3,0	177,7 ± 8,7**	348,7 ± 67,0**
3,5	204,6 ± 14,4**	417,1 ± 109,9*
4,0	242,6 ± 20,3**	255,1 ± 19,9**
<i>Бікукулін</i>		
0 (контроль)	0,66 ± 0,04	1,04 ± 0,047
1,5	0,87 ± 0,07	1,32 ± 0,09*
2,5	0,98 ± 0,04**	1,62 ± 0,03**
3,0	1,05 ± 0,08**	1,7 ± 0,1**
3,5	1,2 ± 0,1**	1,7 ± 0,12**
4,0	1,5 ± 0,1**	2,42 ± 0,09**
5,0	1,44 ± 0,12**	2,5 ± 0,17**
6,0	1,41 ± 0,09**	2,53 ± 0,23**
<i>Пікротоксин</i>		
0 (контроль)	64 ± 4	94 ± 3
1,0	85 ± 3*	128 ± 13
2,0	95 ± 7**	157 ± 17*
3,0	108 ± 7**	169 ± 14**
4,0	123 ± 8**	224 ± 19**
5,0	142 ± 10**	242 ± 10**
6,0	157 ± 11**	239 ± 21**

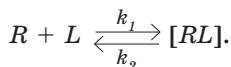
Примітка. \*Статистично значуща різниця порівняно з контролем при  $p \geq 0,95$ ; \*\*статистично значуща різниця порівняно з контролем при  $p \geq 0,99$ .



З наведених даних (зміна мінімальних ефективних доз сполук, що викликають клонічні судоми та тонічну екстензію) у мишей після попереднього введення етанолу в дозах, що зростають (табл. 4), помітно, що протисудомний ефект, що реєструється, відноситься до різних типів залежно від того, який зворотний агоніст ГАМК<sub>A</sub>-комплексу було використано в експерименті. Так, при інфузії коразолу тваринам спостерігається нелінійне (необмежене) зростання протисудомного ефекту етанолу та зменшення вірогідності прояву показників судомного нападу (ДКТС та ДТЕ) на тлі введення високих доз етанолу. Зазвичай такий тип взаємодії з коразолом не спостерігається при дії барбітуратних модуляторів/агоністів ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу [9].

За введення бікукуліну відмічається лінійне зростання порогових доз в обмеженому інтервалі доз етанолу. На тлі введення високих доз етанолу відмічається відхилення від лінійності, спостерігається зниження вірогідності розвитку тонічної екстензії (ДТЕ) в експериментальних тварин. Втім, лише для пікротоксину спостерігається конкурентний антагонізм щодо етанолу. Вищезазначене дозволяє виділити на підставі ізоболічного аналізу два типи гіперболічної модуляції ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу етанолом – у низьких дозах відбувається конкурентний антагонізм, тоді як високі призводять до конкурентної блокади.

Неоднозначний характер нейротоксичних рецептор-опосередкованих ефектів аліфатичних спиртів за умов *in vivo* може бути пояснений на підставі аналізу їхньої протисудомної, міорелаксантичної та загальної токсичної дії в рамках розширеної рецепторно-лігандної моделі взаємодії, що припускає існування в неактивному стані певної кількості комплексу «рецептор-ліганд» та парціального (неповного) агонізму, мірою якого є внутрішня активність речовини ( $\alpha$ ). Так, при формалізації взаємодії ліганду ( $L$ ) та рецептора ( $R$ ) як рівноважного процесу:



Величина ефекту ( $Eff$ ) буде пропорційна кількості комплексу  $[RL]$ , що утворився, та внутрішній активності ліганду  $\alpha$ :

$$Eff = \frac{\alpha R_1 L_1}{k_2/k_1 + L_1}.$$

За певного «фонового» рівня медіатора [10, 11] («фонова окупаційна модель») та декількох агоністів ( $L_1, L_2, \dots, L_n$ ) загальний ефект на рецепторному рівні буде не адитивним, а парціальним, і характеризуватиметься процесом конкурентної взаємодії з рецептором лігандів із різною внутрішньою активністю:

$$Eff = \frac{R_0 \left[ \frac{\alpha_1 L_1}{K_{L_1}} + \frac{\alpha_2 L_2}{K_{L_2}} + \dots + \frac{\alpha_n L_n}{K_{L_n}} \right]}{1 + \sum \frac{L_1}{K_{L_1}} + \sum \frac{L_2}{K_{L_2}} + \dots + \sum \frac{L_n}{K_{L_n}}} = \frac{R_0 \sum \frac{\alpha_n L_n}{K_{L_n}}}{1 + \sum \frac{L_n}{K_{L_n}}}.$$

Слід зауважити, що зі зростанням концентрації ендogenous медіатора лінійно зростатимуть значення уявних постійних констант дисоціації лігандів із рецептором ( $K_{L_n}$ ) та гіперболічно знижуватимуться значення величин їхніх фармакологічних ефектів ( $Eff_{max} = \alpha_n R_0$ ), а також тип взаємодії ліганду та рецептора визначатиметься показником його внутрішньої активності ( $\alpha$ ) й внутрішньої активності ендogenous медіатора ( $\alpha_{мед.}$ ) разом із «фовою» концентрацією ендogenous медіатора ( $L_{мед.}$ ).

Беручи до уваги вищезазначене, протисудомний ефект етанолу, що реєструється, може бути пояснений як власний (при високому значенні внутрішньої активності  $\alpha$ , яка дорівнює або перевищує внутрішню активність ендogenous медіатора – ГАМК), або такий, що реалізується за рахунок модуляції ним функціонування ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного ансамблю, наприклад, через бензодіазепінові місця зв'язування.

Оцінка ефективності етанолу через ГАМК-залежний вплив може бути здійснена на тлі зменшення ендogenous ГАМК після введення інгібітора її синтезу – тіосемікарбазиду (ТСК) та визначення форми залежності кривої «доза-ефект» етанолу.



Уведення етанолу на тлі внутрішньоочеревинного введення доз ТСК, що зростають, дозволило встановити (табл. 5), що ефекти етанолу є антагоністичними судомній дії ТСК. З отриманих даних можна заключити, що для етанолу характерною є не тільки протисудомна активність за всіма показниками (ДКТС та ДТЕ) судомного нападу, але й достовірне зниження летального ефекту ТСК. Таким чином, дія етанолу проявляється й за відсутності/зниження концентрації ендогенної ГАМК та відповідає наявності в етанолі власної внутрішньої активності відносно ГАМК<sub>A</sub>-рецепторної взаємодії.

Для оцінки можливої модуляції етанолом ГАМК<sub>A</sub>-іонофорного ансамблю

через взаємодію з бенздіазепін-зв'язуючою ділянкою було проведено дисперсійний аналіз кривих залежностей «доза-ефект» для введення етанолу окремо з бікукуліном та за сумісного його введення з системою «феназепам-бікукулін» (0,7 мкг/кг + 2 мкг/кг відповідно), оскільки сполуки цієї системи є антагоністами за дією та в зазначених дозах не призводять до розвитку судомної дії, одночасно блокуючи бенздіазепінові місця зв'язування.

При дисперсійному аналізі кривих залежностей «доза-ефект» після введення етанолу, судомних (бікукулін) та протисудомних (феназепам) агентів (фактор А – вплив етанолу, фактор Б – вплив дози, фактор АБ – поєдна-

Таблиця 5

*Залежність судомного (клоніко-тонічні судоми, тонічна екстензія) та летального ефектів від дози тіосемікарбазиду за сумісного введення з етанолом, n = 6*

Доза тіосемікарбазиду, мг/кг	Доза етанолу, г/кг	КТС*	ТЕ*	Летальний ефект, %
7,5	0 (контроль)	0,48	0,33	33
	0,75	0,5	0,17	17
	1,5	0,67	0,33	33
	3,0	0,44	0,19	19
	6,0	0	0	0
10,0	0 (контроль)	0,75	0,5	42
	0,75	1	0,5	50
	1,5	0,5	0,5	50
	2,0	0,75	0,42	33
	3,0	0,64	0,45	45
	6,0	0,58	0,25	25
	8,0	0	0	0
15,0	0 (контроль)	0,92	0,92	92
	0,75	1	1	10
	1,5	1	1	10
	2,0	1	0,67	67
	3,0	0,67	0,67	58
	6,0	0,67	0,33	33
	8,0	0	0	33
20,0	0 (контроль)	1	1	100
	1,5	1	1	100
	2,0	1	0,75	100
	3,0	1	0,42	75
	6,0	0,58	0,25	25
	8,0	0,17	0	0
	10,0	0	0	67

Примітка. КТС – клоніко-тонічні судоми, ТЕ – тонічна екстензія, \*частка від загальної кількості тварин у групі, n – кількість тварин у групі.

*Результати дисперсійного аналізу залежностей «доза-ефект» при введенні етанолу, судомних (бікукулін) та протисудомних (феназепам) агентів (фактор А – вплив етанолу, фактор Б – вплив дози, фактор АБ – поєднаний вплив двох факторів)*

Речовина	Показник	Фактор А	Фактор Б	Фактор АБ
Етанол (1–15 г/кг) + бікукулін (2 мг/кг)	v	1	10	10
	F	0,24	1,24	0,15
	Fст.	11,20–3,90	3,20–1,40	3,20–1,90
Етанол (1–15 г/кг) + «феназепам+бікукулін»	v	1	8	8
	F	1,53	1,79	7,53
	Fст.	11,20–3,90	3,50–2,00	3,50–2,00

ний вплив двох факторів) була встановлена відсутність достовірного впливу кожного з факторів (А, Б), що вивчалися, на нейротоксичну дію етанолу з бікукуліном порівняно з системою, що здійснює конкурентну окупацію бенздіазепінових ділянок зв'язування («феназепам-бікукулін»). Разом з тим, сумісне введення етанолу з «феназепам – бікукуліном» мало ефект, який достовірно різнився від груп кожного з цих факторів окремо, тобто блокада бікукуліном дії феназепаму не досягала контрольних значень на тлі введення доз етанолу, що зростають. Результати даного аналізу дають підставу заключити, що нейротоксичний ефект етанолу реалізується принаймні через бенздіазепінові ділянки ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу та є неадитивним.

Із використанням рівняння (3) можливе як визначення фармакологічного (протисудомного) ефекту аліфатичних спиртів, так і рішення зворотного завдання – фармакодинамічний аналіз фармакокінетичних даних (розрахунок концентрації аліфатичного спирту в біофізі дії) та визначення ступеня їх надходження до головного мозку на підставі фармакологічних даних. Необхідними передумовами є визначення показників гіперболічної залежності (3) та відповідної концентрації речовини в крові, оскільки за фармакодинамічними даними швидкооборотних ефектів можливе встановлення лише абсолютної концентрації діючої речовини в мозку.

Попереднє визначення показників  $E_{\max}$  (для клоніко-тонічних судом та тонічної екстензії ДКТС<sub>max</sub> та ДТЕ<sub>max</sub> відповідно) та  $C_{50}$  (відповідні значення  $C_{50}$  ДКТС та  $C_{50}$  ДТЕ) показало (табл. 7), що нижчі

аліфатичні спирти за проявом максимального ефекту ( $E_{\max}$ ) та здатністю до модулювання функцій ГАМК<sub>A</sub>-рецептора за антагонізмом з бікукуліном (що визначається величиною  $C_{50}$ ) є близькими та, ймовірно, реалізують свій ефект на рецепторному рівні незалежно від структури їхнього радикала, тому визначена розбіжність між їхньою ефективністю при співставленні ефективних доз (а не реальних концентрацій, рис. 2) є наслідком різної здатності цих сполук долати ГЕБ. З цього ряду виділяється метанол, протисудомна активність якого за антагонізмом з бікукуліном є значно зниженою (що виражаються в збільшенні показників  $C_{50}$  ДКТС та  $C_{50}$  ДТЕ поряд із збереженням величин максимальних ефектів ДКТС<sub>max</sub> та ДТЕ<sub>max</sub>) та зумовлена, вочевидь, низькою здатністю до взаємодії з ГАМК<sub>A</sub>-рецептором.

Із використанням визначених величин ДКТС та ДТЕ аліфатичних спиртів та паралельного визначення їхнього вмісту в головному мозку та крові було співставлено теоретично розраховані та експериментально визначені показники їхнього розподілу між мозком та кров'ю (співвідношення «мозок/кров», табл. 7) та показано високий ступінь збіжності даних експерименту та тих, що отримані на підставі фармакодинамічного аналізу. Втім, слід зазначити, що показники  $C_{\text{мозок}}$  ДТЕ та відповідні величини співвідношення «мозок/кров ДТЕ» є дещо знижені, що зумовлено відхиленням від лінійності залежності «концентрація-ефект» та асимптотичним наближенням її до максимальної величини при високих концентраціях аліфатичних спиртів. Це визначає певні обмеження використання даного методу інтервалом таких концентра-

Експериментально визначені та розраховані на підставі фармакодинамічного аналізу (внутрішньовенна інфузія бікукуліну, мг/кг) значення вмісту аліфатичних спиртів у головному мозку мишей (мкмоль/г) та співвідношення концентрацій «головний мозок/кров»,  $M \pm t$ ,  $n = 5$

	Метанол	Етанол	Пропанол	Бутанол
Показники залежності «концентрація-ефект»				
ДКТС <sub>max</sub> , мг/кг	1,73 ± 0,04	1,7 ± 0,1	1,65 ± 0,09	1,81 ± 0,08
ДТЕ <sub>max</sub> , мг/кг	3,06 ± 0,06	2,87 ± 0,12	2,70 ± 0,14	3,07 ± 0,14
C <sub>50</sub> ДКТС, мкмоль/г	2,69 ± 0,25	1,54 ± 0,19	1,39 ± 0,14	1,69 ± 0,18
C <sub>50</sub> ДТЕ, мкмоль/г	3,31 ± 0,32	1,71 ± 0,17	1,32 ± 0,13	1,49 ± 0,15
Експериментальні дані визначення швидкооборотних ефектів (мг/кг бікукуліну) та концентрації аліфатичних спиртів (мкмоль/см <sup>3</sup> ) у крові				
ДКТС, мг/кг	1,12 ± 0,04	1,31 ± 0,08	1,58 ± 0,04	1,2 ± 0,2
ДТЕ, мг/кг	1,78 ± 0,27	2,02 ± 0,42	2,58 ± 0,49	2,1 ± 0,6
C <sub>кров.експ.</sub> , мкмоль/см <sup>3</sup>	16,5 ± 1,8	6,1 ± 1,0	34,9 ± 4,9	4,9 ± 1,2
Розраховані дані вмісту аліфатичних спиртів у головному мозку (мкмоль/г)				
C <sub>мозок</sub> (ДКТС), мкмоль/г	4,9 ± 0,5	4,9 ± 0,8	30,7 ± 3,6	3,5 ± 0,6
C <sub>мозок</sub> (ДТЕ), мкмоль/г	4,6 ± 0,5	4,1 ± 0,7	28,6 ± 4,4	3,3 ± 0,9
Експериментальне та розраховане значення співвідношення «мозок/плазма»				
Співвідношення, визначене в досліді	0,32 ± 0,03	0,76 ± 0,12	0,81 ± 0,11	0,72 ± 0,17
Співвідношення, розраховане за даними ДКТС	0,30 ± 0,01	0,81 ± 0,05	0,88 ± 0,07	0,71 ± 0,11
Співвідношення, розраховане за даними ДТЕ	0,28 ± 0,01	0,67 ± 0,04	0,82 ± 0,05	0,67 ± 0,08

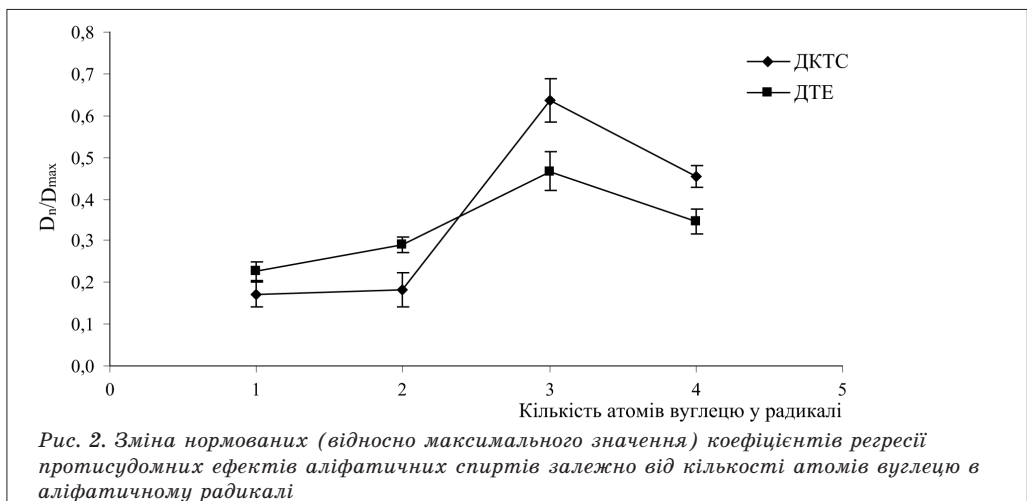
цій, що близькі до величин C<sub>50</sub> ефекту, який реєструється.

### Висновки

Токсична дія аліфатичних спиртів обумовлена комплексом реакцій, з яких можуть бути відокремлені як прямі (мембранотропний, рецепторопосередкований, нейротоксичний), так і непрямі – (метаболічний) ефекти.

Летальна дія, як інтегральна характеристика токсичності спиртів, включає віддалені ефекти, пов'язані з утворенням індивідуальних токсичних метаболітів та розвитком метаболічного ацидозу, що є особливо значущим у випадку метанолу та бутанолу.

Нейротоксичні ефекти спиртів обумовлені їхньою здатністю долати ГЕБ, що виражається в кореляції між вели-



чиною співвідношення їхніх концентрацій «головний мозок-плазма крові» з одного боку, та міорелаксаційним ефектом – з іншого. Вказана залежність носить нелінійний характер; найбільший ефект притаманний пропанолу.

Етанол має власну внутрішню активність відносно ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу, навіть на тлі зниження концентрації ендогенної ГАМК. Нейротоксичний ефект етанолу реалізується принаймні через бенздіазепінові ділян-

ки ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу та є неадитивним.

Фармакодинамічний метод визначення співвідношення концентрацій «мозок/плазма» дозволяє отримувати статистично достовірні та наближені до реальних показників дані для всіх аліфатичних спиртів, але його використання обмежене інтервалом концентрацій сполук у головному мозку, за яких зберігається лінійна залежність між вмістом у біофазі дії та ефектом, що реєструється.

1. Ballabh P. The blood-brain barrier: an overview Structure, regulation, and clinical implications / Ballabh P., Braun A., Nedergaard M. // *Neurobiol Dis.*– 2004.– V. 16.– P. 1–13
2. Structure and function of the blood-brain barrier / Abbott N. J., Patabendige A. A., Dolman D. E. [et al.] // *Neurobiol Dis.*– 2010.– V. 37 (1).– P. 13–25.
3. Головенко Н. Я. Экспериментальные методы изучения проницаемости гематоэнцефалического барьера / Головенко Н. Я., Ларионов В. Б. // *Вісник психіатрії та психофармакотерапії.*– 2008.– № 1 (13).– С. 14–22.
4. Головенко Н. Я. Моделирование проницаемости гематоэнцефалического барьера для лекарственных средств, основанное на зависимости «структура-свойство» / Головенко Н. Я., Ларионов В. Б. // *Вісник психіатрії та психофармакотерапії.*– 2009.– № 1, Т. 15.– С. 7–14.
5. Jones B. J. The Quantitative Measurement of Motor Incoordination in Naive Mice Using an Accelerating Rotarod / Jones B. J., Roberts D. J. // *J. Pharm. Pharmac.*– 1968.– V. 20.– P. 302–304.
6. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон.– М.: Высшая школа, 1991.– 385 с.
7. Феназепам / Андронати С. А., Авруцкий Г. Я., Богатский А. В. [и др.].– К.: Наукова думка, 1982.– 288 с.
8. Урбах В. Ю. Статический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В. Ю. Урбах.– М.: Медицина, 1975.– 297 с.
9. Головенко Н. Я. Эффекторное моделирование действия лигандов ГАМК-рецепторного комплекса: функциональное взаимодействие мусцилома и экзогенных модуляторов комплекса / Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г., Жук О. В. // *Бюл. Эксперим. Биол. Мед.*– 1991.– № 6.– С. 625–627.
10. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of the EEG effect of alfentanil in rats following beta-funaltrexamine-induced mu-opioid receptor “knockdown” *in vivo* / Garrido M., Gubbens-Stibbe J., Tukker E. [et al.] // *Pharm Res.*– 2000.– V. 17.– P. 653–659.
11. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of antipolytic effects of adenosine A(1) receptor agonists in rats: prediction of tissue-dependent efficacy *in vivo* / Van der Graaf P. H., Van Schaick E. A., Visser S. A. [et al.] // *J. Pharmacol Exp Ther.*– 1999.– V. 290.– P. 702–709.
12. Danhof M. Modeling of relationships between pharmacokinetics and pharmacodynamics / Danhof M., Mandema J. W. // In: Welling PG, Tse F, eds. *Pharmacokinetics.*– New York: Marcel Dekker, 1994.– P. 139–174.
13. Toward the Prediction of CNS Drug-Effect Profiles in Physiological and Pathological Conditions Using Microdialysis and Mechanism-Based Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling / De Lange E. C. M., Raventijn P. G. M., Groenendaal D., van Steeg T. J. // *The AAPS Journal.*– 2005.– V. 3, № 7.– P. 532–543.
14. DeBerardinis R. J. Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us? / DeBerardinis R. J., Thompson C. B. // *Cell.*– 2012.– V. 148, № 6.– P. 1132–1144.
15. Walker R. Biochemical mechanisms of toxicity In Reyes, Felix G.R.; Almeida, Waldemar F. de. *ECO. Toxicological prospective y seguridad...* – Metepec, ECO, 1992. – P. 147–164.
16. Alkire M. T. Toward a unified theory of narcosis: brain imaging evidence for a thalamocortical switch as the neurophysiologic basis of anesthetic-induced unconsciousness / Alkire M. T., Haier R. J., Fallon J. H. // *Conscious Cogn.*– 2000.– V. 9, № 3.– P. 370–386.
17. Liesivuori J. Methanol and formic acid toxicity: Biochemical mechanisms / Liesivuori J., Savolainen H. // *Pharmacol. Toxicol.*– 1991.– № 69.– P. 157–163.
18. Roe O. Species differences in methanol poisoning / Roe O. // *Crit. Rev. Toxicol.*– 1982.– № 10.– P. 275–286.
19. Tephly T. R. Methanol metabolism and toxicity / Tephly T. R., McMartin K. E. // In *Aspartame. Physiology and Biochemistry* (Stegink L. D. Filer L. J. jr. Eds).– New York: Marsel Dekker, 1984.– P. 111–140.
20. Kruse J. A. Methnol poisoning / Kruse J. A. // *Intensive Care medicine.*– 1992.– V. 18, № 7.– P. 391–397.
21. Correlation between hydrophobicity of short-chain aliphatic alcohols and their ability to alter plasma membrane integrity / McKarns S. C., Hansch C., Caldwell W. S. [et al.] // *Fundam. Appl. Toxicol.*– 1997.– V. 36, № 1.– P. 62–70.

22. The toxic and metabolic effects of 23 aliphatic alcohols in the isolated perfused rat liver / Strubelt O., Deters M., Pentz R. [et al.] // *Toxicol Sci.*– 1999.– V. 49, № 1.– P. 133–142.
23. Effect ethanol on the GABA – benzodiazepine receptors in brain / De Vries D., Ward Z., Willie P. [et al.] // *Alcohol Suppl.*– 1987.– V. 2.– P. 663–667.
24. *Znuk O.* The pharmacodynamics of anticonvulsant and subconvulsant effects of ethanol in CBA and C57BZ/6 mice / Znuk O., Zinkovsky V., Golovenko N. // *Alcohol.*– 2001. V. 23.– P. 23–28.
25. *Лужников Е. А.* Клиническая токсикология / Е. А. Лужников.– М.: Медицина, 1999.– 416 с.
26. Влияние ацетальдегида на этанол – и ацетальдегидметаболизирующие системы печени и мозга крыс / Бардина Л. Р., Пронько Л. С., Сатановская В. И., Кузьмич А. Б. // *Укр. біохім. журн.*– 2003.– Т. 75, № 6.– С. 129–133.
27. A simple method for quantifying functional selectivity and agonist bias / Kenakin T., Watson C., Muniz-Medina V. [et al.] // *ACS Chem. Neurosci.*– 2012.– V. 3, № 3.– P. 193–203.
28. *Kenakin T.* Principles: receptor theory in pharmacology / Kenakin T. // *Trends Pharmacol Sci.*– 2004.– V. 25, № 4.– P. 186–192.

**В. Б. Ларионов, Е. А. Федорова, Н. Я. Головенко**

### **Анализ проницаемости гематоэнцефалического барьера для низших алифатических спиртов на основе фармакодинамических и нейротоксических эффектов**

Целью работы было изучение механизмов нейротоксичности низших алифатических спиртов и установление взаимосвязи между развитием быстрообратимых ГАМК<sub>A</sub>-опосредованных эффектов и степенью их проникновения через ГЭБ.

Эксперименты проведены на белых мышах, которым вводили <sup>14</sup>C-меченные алифатические спирты (метанол, этанол, пропанол, бутанол) в разных дозах и определяли содержание радиоактивного материала в головном мозге и крови методом жидкостной сцинтилляционной фотометрии. Параллельно оценивался общий летальный и специфичный нейротоксичный (миорелаксация) эффекты. Противосудорожную активность определяли методом внутривенной инфузии (титрование) судорожных агентов с регистрацией разных компонентов судорожного припадка.

Установлено, что токсическое действие алифатических спиртов является комплексом прямых (рецептор-опосредованных) и непрямых (метаболических) реакций. Нейротоксическое действие спиртов коррелирует со степенью их проникновения через гематоэнцефалический барьер, является нелинейным, а наибольший эффект проявляет пропанол. Показана возможность использования фармакодинамического метода регистрации быстрообратимых эффектов (противосудорожное действие по отношению к бикуккуллину) для определения соотношения концентраций «мозг/кровь».

*Ключевые слова:* нейротоксичность, алифатические спирты, фармакодинамический эффект, гематоэнцефалический барьер

**V. B. Larionov, E. A. Fedorova, N. Ya. Golovenko**

### **Blood-brain barrier permeability analysis for lower aliphatic alcohols on the base of their pharmacodynamics and neurotoxic effects**

The aim of the work was to study the neurotoxicity mechanisms for lower aliphatic alcohols and relationships between quickly-reversing GABA<sub>A</sub>-related effects and their ability to permeate blood-brain barrier (BBB). The <sup>14</sup>C-labeled lower aliphatic alcohols (ethanol, methanol, propanol, butanol) were administered to white mice in various doses, followed by radioactive compounds content in blood and brain determination using the liquid scintillation photometry. The common lethal and specific neurotoxic (myorelaxation) effects were estimated simultaneously. Anticonvulsive activity was determined using the method of intravenous convulsion agents infusion (titration) with registration of the different seizure components. It was found that toxic activity of the aliphatic alcohols is a complex of direct (receptor-mediated) and non-direct (metabolic) reactions. Neurotoxic action of alcohols correlates with their ability to permeate through the BBB, is non-linear and the maximum effect inherent to propanol. The toxic effect of methanol is a complex of both the parent substance and in a great part due to its metabolites. Particularly, the formic acid, that causes metabolic acidosis (lowing from 7,17 ± 0,4 g/kg at 6 hours to 1,4 ± 0,2 at 24 hours after administration). The toxic effect of other substances depends on the non-metabolized alcohols formation. The dispersion analysis of the “dose-effect” curves after ethanol administration alone and in combination with “phenazepam-bicuculline” system had shown that neuroactive effect of ethanol and other alcohols involves benzodiazepine-binding sites of GABA<sub>A</sub>-receptors. In conclusion, there was shown the competence to use pharmacodynamic method of quickly-reversible effects registration (anticonvulsive action in antagonism to bicuculline) for determination «brain/blood» concentrations ratio. This method demands previous determination of maximum values for effective components concentrations (doses, that cause clonic seizures and tonic extensia) according to the hyperbolic «concentration-effect» equation.

*Key words:* neurotoxicity, aliphatic alcohols, pharmacodynamic effect, blood-brain barrier

Надійшла: 28.10.2013 р.

**Контактна особа:** Ларионов Віталій Борисович, кандидат біологічних наук, відділ фізико-хімічної фармакології, Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, буд. 86, Люстдорфська дор., м. Одеса, 65080. Електронна пошта: lvb\_78@mail.ru



В. М. Бобирьов, Н. М. Дев'яткіна, О. Є. Дев'яткін

## **Вивчення лікувальної дії нового комбінованого гелю «Ротрин-Дента» на моделі травматичного стоматиту в щурів**

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

*Ключові слова: комбінований гель «Ротрин-Дента», травматичний стоматит, лікувальна дія*

Травматичні ушкодження відносяться до найпоширеніших хвороб слизової оболонки порожнини рота (СОПР). У результаті надмірного безпосереднього впливу на слизову оболонку травматичного фактора, зокрема, механічного (зуба, кламера, нависаючої пломби, протезу тощо), виникають запальні захворювання СОПР – травматичні стоматити. За тривалої дії механічного подразника можливі утворення виразок, гіперкератоз та перетворення слизової оболонки [1, 2]. Суттєвим недоліком існуючих лікарських засобів, які застосовуються для лікування захворювань СОПР, є короткочасна дія препаратів у порожнині рота. Саме тому перспективні лікарські засоби пролонгованої дії, які забезпечують локальне та рівномірне вивільнення діючої речовини з лікарської форми, створюючи їхню високу концентрацію в місцях використання. Цим вимогам відповідає гель [3]. Серед зареєстрованих в Україні стоматологічних гелів незначний відсоток препаратів вітчизняного виробництва. Важливим є вплив препаратів на різні ланки етіопатогенезу, який можуть забезпечувати комбіновані лікарські засоби, створені на основі лікарської рослинної сировини.

У Національному фармацевтичному університеті (м. Харків, Україна) розроблено новий комбінований стоматологічний гель із умовною назвою «Ротрин-Дента», що містить у своєму складі рослинний препарат «Ротокан» (Лубнифарм, Україна) і синтетичний антисептик триклозан (заявка на вина-

хід № u 201302086). У попередніх морфологічних дослідженнях нами було встановлено, що гель «Ротрин-Дента» виявляє ранозагоювальну дію за травматичного ушкодження слизової оболонки порожнини рота [4].

*Мета дослідження* – вивчити біохімічні механізми лікувальної дії гелю «Ротрин-Дента» за умов травматичного стоматиту в щурів.

*Матеріали та методи.* Дослідження виконано на 70 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 190–230 г. Перед початком експерименту в усіх щурів була обстежена порожнина рота. Тварин методом випадкової вибірки було розподілено на 7 груп по 10 щурів у кожній: 1 – інтактний контроль; 2 і 3 – позитивний контроль, через 5 і 8 діб після травматичного ушкодження відповідно; 4 і 5 – дослідні групи з травматичним стоматитом, яким наносили аплікації досліджуваного гелю та препарату порівняння відповідно протягом 3 діб; 6 і 7 – дослідні групи тварин з травматичним стоматитом, яким наносили аплікації досліджуваного гелю й препарату порівняння відповідно протягом 6 діб. Травматичний стоматит моделювали нанесенням під ефірним наркозом на слизову оболонку обох щік щурів дозованої травми за допомогою очного трепана діаметром 3 мм [5]. Як препарат порівняння було обрано вітчизняний стоматологічний гель «Камідент-Здоров'я» (ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна), близький за складом і фармакологічними властивостями до гелю «Ротрин-Дента». Лікування розпочинали з другого дня після моделювання травми. Тривалість одноразової аплікації гелю складала 2 хв. Тваринам груп контрольної

патології травматичні виразки обробляли фізіологічним розчином. Тварин виводили з експерименту на 5 добу (1, 2, 4, 5 групи) і на 8 добу (1, 3, 6, 7 групи) шляхом тотального кровопускання з серця під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) та вилучали слизову оболонку щоки для біохімічного аналізу. Гомогенат слизової оболонки щоки готували з розрахунку 20 мг/мл 0,05М трис-НСІ буфера рН 7,5. У гомогенаті визначали активність протеолітичного ферменту еластази [6], що дозволяє оцінити ступінь деструктивних явищ у процесі розвитку запалення. Стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) визначали за вмістом продуктів, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) [6]. Також визначали активність каталази [7], від якої залежить ступінь нейтралізації перекисів, які виробляються патогенною мікрофлорою порожнини рота [8]. Стан неспецифічного антимікробного захисту ротової порожнини визначали за активністю лізоциму [9]. Для оцінки ступеня обсіменіння порожнини рота умовно-патогенною мікрофлорою визначали активність уреазы [9]. За рівнем відносної активності уреазы й лізоциму розраховували показник ступеня дисбіозу за Левицьким [8]. У сироватці крові проводили визначення вмісту інгібітора трипсину [9], активності еластази [6] і лізоциму [8]. Роботу з тваринами виконували відповідно до Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до лабораторних тварин (Страсбург, 1986). Статистичну обробку результатів проводили методом варіаційної статистики з оцінкою вірогідності за t-критерієм Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** У таблиці 1 наведено результати дослідження деяких маркерів запалення та активності одного з основних ферментів антиоксидантного захисту – каталази в тканині слизової оболонки щоки після моделювання травматичного стоматиту та лікування гелем «Ротрин-Дента» або препаратом порівняння «Камідент-Здоров'я». Як видно із наведених даних, моделювання травми призвело через 5 діб до зміни показників у

гомогенаті слизової оболонки щоки тварин, а саме, до збільшення активності еластази на 25% ( $p < 0,05$ ) і вмісту ТБК-активних продуктів на 37,9% ( $p < 0,01$ ) на тлі зниження активності каталази на 40,5% ( $p < 0,001$ ). Через 8 діб після моделювання травматичного стоматиту зміни маркерів запалення набули більшої статистичної вірогідності:  $p < 0,02$  – для активності еластази і  $p < 0,002$  – для вмісту ТБК-активних продуктів (табл. 1). Ці дані узгоджуються з результатами дослідження В. Я. Скиби [10], де описано динаміку загоєння травматичних виразок слизової оболонки щоки щурів та показано, що на 8–9 добі експерименту в 90% тварин ще спостерігаються виразки.

Лікування гелем «Ротрин-Дента» протягом 3 діб сприяло зниженню активності еластази в слизовій оболонці щоки щурів ( $p_1 < 0,05$ ) до рівня, зареєстрованого в інтактних тварин ( $p > 0,6$ ). Уміст ТБК-активних продуктів у слизовій оболонці щурів цієї групи зберігався таким самим високим, як і в тварин з травмою без лікування. Слід зазначити, що лікування гелем «Камідент-Здоров'я» протягом 3 днів суттєво не вплинуло на рівень маркерів запалення в тканині слизової оболонки щоки щурів п'ятої групи. Активність каталази в слизовій оболонці після триденного лікування гелями «Ротрин-Дента» або «Камідент-Здоров'я» зберігалась на низькому рівні, як і в контрольній групі з травматичним стоматитом (табл. 1).

Через 6 днів застосування гелю «Ротрин-Дента» рівень маркерів запалення в слизовій оболонці щурів тварин був низьким і відповідав значенням у інтактних щурів ( $p > 0,4–0,8$ ). Активність каталази у цей термін дослідження достовірно збільшилася ( $p_1 < 0,05$ ) до рівня показника щурів без травми ( $p > 0,25$ ). Аплікації на слизову оболонку щік щурів препарату порівняння впродовж 6 діб призводили до зменшення активності еластази до нормальних значень ( $p > 0,5$ ), але не впливали на вміст ТБК-активних продуктів і активність каталази ( $p < 0,05$  і  $p < 0,02$  відповідно, табл. 1).



**Маркери запалення в слизовій оболонці щоки щурів за травматичного стоматиту та застосування гелю «Ротрин-Дента»**

№	Групи щурів, n = 10	Активність еластази, мкат/кг	Уміст ТБК-активних продуктів, ммоль/кг	Активність каталази, мкат/кг
1	Інтактний контроль	0,036 ± 0,003	10,77 ± 0,94	3,41 ± 0,22
2	Контрольна патологія (травма 5 діб)	0,045 ± 0,003 p < 0,05	14,85 ± 1,04 p < 0,01	2,03 ± 0,21 p < 0,001
3	Контрольна патологія (травма 8 діб)	0,047 ± 0,003 p < 0,02	15,90 ± 1,27 p < 0,002	2,06 ± 0,28 p < 0,001
4	Травма (5 діб) + гель «Ротрин-Дента» (3 доби)	0,038 ± 0,002 p > 0,6 p <sub>1</sub> < 0,05	14,49 ± 1,32 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,8	2,41 ± 0,21 p < 0,002 p <sub>1</sub> > 0,25
5	Травма (5 діб) + гель «Камідент-Здоров'я» (3 доби)	0,044 ± 0,003 p < 0,01 p <sub>1</sub> > 0,8	14,91 ± 1,66 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,8	2,15 ± 0,20 p < 0,001 p <sub>1</sub> > 0,7
6	Травма (8 діб) + гель «Ротрин-Дента» (6 діб)	0,037 ± 0,004 p > 0,8 p <sub>1</sub> < 0,05	12,21 ± 1,12 p > 0,4 p <sub>1</sub> < 0,05	2,97 ± 0,31 p > 0,25 p <sub>1</sub> < 0,05
7	Травма (8 діб) + гель «Камідент-Здоров'я» (6 діб)	0,039 ± 0,004 p > 0,5 p <sub>1</sub> > 0,2	13,95 ± 1,10 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,25	2,42 ± 0,31 p < 0,02 p <sub>1</sub> > 0,4

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: p – достовірність відмінностей показника порівняно з інтактним контролем; p<sub>1</sub> – достовірність відмінностей показника порівняно з відповідним терміном групи контрольної патології; n – кількість тварин у групі.

У таблиці 2 наведено результати дослідження показників, що характеризують ступінь мікробного обсіменіння умовно-патогенною мікрофлорою (активність уреаз), неспецифічного антимікробного захисту порожнини рота (активність лізоциму) і ступінь дисбіозу в слизовій оболонці щоки щурів з травматичним стоматитом і після лікування гелем «Ротрин-Дента», або препаратом порівняння. Моделювання травми викликає збільшення активності уреаз в 3,3 разу через 5 діб і в 4,1 разу через 8 діб (p < 0,001) на тлі зниження активності лізоциму в середньому в 1,6 разу (p < 0,02) і підвищення ступеня дисбіозу в 5,2 разу через 5 діб і в 6,9 разу через 8 діб (p < 0,001). Ступінь дисбіозу є інтегральним показником, і його значне підвищення відображає порушення систем взаємодії макро- і мікроорганізмів [8] у щурів з травматичним ушкодженням слизової оболонки щоки.

Лікування протягом 3 діб, як гелем «Ротрин-Дента», так і гелем «Камідент-Здоров'я», сприяло достовірному зни-

женню активності уреаз в гомогенатах слизової оболонки щоки щурів (p<sub>1</sub> < 0,002–0,001 відповідно), значення якої не досягли нормального рівня (p < 0,02–0,001 відповідно). Активність лізоциму через 3 доби лікування гелем «Ротрин-Дента» і препаратом порівняння суттєво не змінилася. Ступінь дисбіозу, незважаючи на достовірне зниження в 2,5–2,4 разу, зберігався високим (p < 0,001; табл. 2).

Шестидобове лікування травматичного стоматиту гелем «Ротрин-Дента» сприяло нормалізації активності уреаз (p > 0,3) і лізоциму (p > 0,3) у слизовій оболонці щоки, однак ступінь дисбіозу у тварин цієї групи зберігався на достовірно високому рівні щодо показників інтактних щурів (p < 0,02). Застосування гелю «Камідент-Здоров'я» також призвело до вираженого зниження активності уреаз (p<sub>1</sub> < 0,001) і збільшення активності лізоциму (p<sub>1</sub> < 0,05). При цьому нормалізувалася тільки активність лізоциму (p > 0,2), а активність уреаз, так само як і ступінь дисбіозу, була достовірно високою за відпо-

*Активність уреазы та лізоциму в слизовій оболонці щочки щурів за травматичного стоматиту та застосування гелю «Ротрин-Дента»*

№	Група щурів, n = 10	Активність уреазы, мккат/кг	Активність лізоциму, од/г	Ступінь дисбіозу
1	Інтактний контроль	0,48 ± 0,07	0,364 ± 0,045	1,0 ± 0,00
2	Контрольна патологія (травма 5 діб)	1,60 ± 0,22 p < 0,001	0,233 ± 0,020 p < 0,02	5,20 ± 0,41 p < 0,001
3	Контрольна патологія (травма 8 діб)	1,98 ± 0,13 p < 0,001	0,217 ± 0,037 p < 0,02	6,88 ± 0,52 p < 0,001
4	Травма (5 діб) + гель «Ротрин-Дента» (3 доби)	0,71 ± 0,07 p < 0,02 p <sub>1</sub> < 0,002	0,258 ± 0,021 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,4	2,08 ± 0,24 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001
5	Травма (5 діб) + гель «Камідент-Здоров'я» (3 доби)	0,78 ± 0,10 p < 0,002 p <sub>1</sub> < 0,001	0,269 ± 0,027 0,05 < p < 0,1 p <sub>1</sub> > 0,3	2,20 ± 0,18 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001
6	Травма (8 діб) + гель «Ротрин-Дента» (6 діб)	0,57 ± 0,07 p > 0,3 p <sub>1</sub> < 0,001	0,312 ± 0,016 p > 0,3 p <sub>1</sub> < 0,02	1,38 ± 0,11 p < 0,02 p <sub>1</sub> < 0,001
7	Травма (8 діб) + гель «Камідент-Здоров'я» (6 діб)	0,72 ± 0,07 p < 0,02 p <sub>1</sub> < 0,001	0,298 ± 0,020 p > 0,2 p <sub>1</sub> < 0,05	1,83 ± 0,14 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001

відні значення показників тварин інтактної групи (p < 0,020–0,001; табл. 2).

Як показано в таблиці 3, через 5 діб після моделювання травматичного стоматиту в сироватці крові щурів активність еластази не змінилася (p > 0,3), а вміст інгібітора трипсину й активність лізоциму достовірно знизилися (p < 0,01 і p < 0,05 відповідно). На 8 день моделювання патології підвищилася і активність сироваткової еластази на 18,0%, що характеризує ступінь запалення в організмі (p < 0,02).

Лікування травматичного стоматиту обома препаратами позитивно впливало на вміст інгібітора трипсину в сироватці крові щурів через 5 діб. Активність еластази та лізоциму достовірно не відрізнялися від показників контрольної патології. Після 6-добового лікування зміни в крові тварин стали більш вираженими: нормалізувались показники активності еластази, лізоциму та вмісту інгібітора трипсину (табл. 3). Слід звернути увагу на те, що суттєвої різниці між лікувальною дією гелів «Ротрин-Дента» і «Камідент-Здоров'я» за досліджуваними показниками в сироватці крові щурів з травматичним стоматитом не виявлено.

Обговорюючи результати проведеного дослідження, можна зазначити

наступне: моделювання травматичного стоматиту сприяє розвитку запалення, про що свідчить підвищення активності потужного протеолітичного ферменту еластази, який ушкоджує тканини ротової порожнини шляхом деструкції колагенових фібрил і білково-глікозаміногліканових комплексів [11, 12]. За цих умов також відбувається інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів (накопичуються ТБК-активні продукти), що порушує структуру й функцію клітинних мембран. Ці процеси відбуваються на тлі зниження функції антиоксидантної системи (активності каталази) і неспецифічного антимікробного захисту (активності лізоциму) та підвищення ступеня дисбіозу в слизовій оболонці щочки експериментальних тварин. Відтворення локальної травми негативно відбивається на системному рівні зниженням неспецифічної резистентності (уміст інгібітора трипсину, активність лізоциму) і розвитком запальної реакції (активність еластази) у сироватці крові щурів.

Лікування травматичного стоматиту гелем «Ротрин-Дента» у ранній термін (3 доби) сприяло ефективнішому гальмуванню запального процесу порівня-

## Показники неспецифічної резистентності та запалення в сироватці крові щурів на тлі травматичного стоматиту та застосування гелю «Ротрин-Дента»

№	Група щурів, n = 10	Активність еластази, мккат/л	Уміст інгібітора трипсину, г/л	Активність лізоциму, од/л
1	Інтактний контроль	280,01 ± 19,75	0,523 ± 0,006	0,047 ± 0,009
2	Контрольна патологія (травма 5 діб)	310,57 ± 20,53 p > 0,3	0,498 ± 0,006 p < 0,01	0,022 ± 0,008 p < 0,05
3	Контрольна патологія (травма 8 діб)	330,41 ± 8,36 p < 0,02	0,501 ± 0,003 p < 0,002	0,023 ± 0,003 p < 0,02
4	Травма (5 діб) + гель «Ротрин-Дента» (3 доби)	302,01 ± 25,61 p > 0,5 p <sub>1</sub> > 0,8	0,522 ± 0,003 p > 0,8 p <sub>1</sub> < 0,002	0,032 ± 0,009 p > 0,25 p <sub>1</sub> > 0,4
5	Травма (5 діб) + гель «Камідент-Здоров'я» (3 доби)	324,09 ± 22,0 p > 0,2 p <sub>1</sub> > 0,7	0,518 ± 0,006 p > 0,1 p <sub>1</sub> < 0,02	0,030 ± 0,008 p > 0,2 p <sub>1</sub> > 0,4
6	Травма (8 діб) + гель «Ротрин-Дента» (6 діб)	286,51 ± 12,28 p > 0,8 p <sub>1</sub> < 0,01	0,523 ± 0,003 p = 1,0 p <sub>1</sub> < 0,001	0,044 ± 0,009 p > 0,8 p <sub>1</sub> < 0,05
7	Травма (8 діб) + гель «Камідент-Здоров'я» (6 діб)	287,95 ± 14,03 p > 0,7 p <sub>1</sub> < 0,02	0,518 ± 0,005 p > 0,5 p <sub>1</sub> < 0,01	0,039 ± 0,007 p > 0,4 p <sub>1</sub> < 0,05

но з гелем «Камідент-Здоров'я», а на пізній (6 діб) – більш вираженому гальмуванню перекисного окиснення ліпідів і розмноження умовно-патогенної мікрофлори, а також більш значному підвищенню рівня антиоксидантного і антимікробного захисту у вогнищі травми. Різна ефективність досліджуваного гелю і препарату порівняння зумовлена наявністю значної кількості біологічно активних рослинних речовин (флавоноїдів, каротиноїдів, аскорбінової кислоти, органічних кислот, дублячих речовин) у складі гелю «Ротрин-Дента» на відміну від гелю «Камідент-Здоров'я». Обидва гелі проявили однакову лікувальну ефективність щодо системних показників у сироватці крові експериментальних тварин. Отримані дані є підставою рекомендувати новий комбінований гель «Ротрин-Дента» для лікування травматичних ушкоджень слизової оболонки порожнини рота.

## Висновки

1. Лікування травматичного стоматиту комбінованим гелем «Ротрин-Дента» сприяло ефективному гальмуванню запального процесу в слизовій оболонці щоки в досліджувані терміни: знижувались активність еластази та вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів, що відбувалося на тлі підвищення активності антиоксидантної системи й неспецифічного антимікробного захисту та зниження ступеня дисбіозу.
2. Гель «Ротрин-Дента» виявив більшу протизапальну та антиоксидантну дію порівняно з референс-препаратом «Камідент-Здоров'я» і був співставим з останнім за впливом на неспецифічний антимікробний захист і ступінь дисбіозу в слизовій оболонці щоки та біохімічні показники в сироватці крові.

1. Терапевтична стоматологія: у 4 т., Т. 4. Захворювання слизової оболонки порожнини рота / М. Ф. Данилевський, А. Б. Борисенко, М. Ю. Антоненко [та ін.]. – К.: Медицина, 2010. – 640 с.
2. Сідельнікова Л. Ф. Локальна сорбція в комплексному лікуванні ерозивно-виразкових уражень слизової оболонки порожнини рота травматичної етіології // Л. Ф. Сідельнікова, В. С. Скібіцький, О. О. Скібіцька // Современная стоматология. – 2013. – № 1. – С. 50–52.
3. Давтян Л. Л. Гелі як засіб нового покоління в стоматологічній практиці / Л. Л. Давтян // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: матеріали VI Нац. з'їзду фармац. України. – Х.: Вид-во НФаУ, 2005. – С. 208–209.

4. Скринінг ранозагоєвальної дії нового стоматологічного гелю на основі рослинного препарату та синтетичного антисептика / В. М. Бобирьов, Н. М. Дев'яткіна, Ю. О. Беспала [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. – 2013. – Вип. 2 (100). – С. 240–244.
5. Доклінічне вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота: методичні рекомендації / К. М. Косенко, В. Я. Скиба, А. П. Левицький [та ін.]. – К., 2002. – 19 с.
6. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / Левицкий А. П., Деньга О. В., Макаренко О. А. [и др.]. – Одесса: КП «Одеська міська друкарня», 2010. – 16 с.
7. *Гирин С. В.* Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // Лаб. диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45–46.
8. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: методические рекомендации / Левицкий А. П., Макаренко О. А., Селиванская И. А. [и др.]. – К.: ГФЦ МЗ Украины, 2007. – 23 с.
9. *Веремеенко К. Н.* Методы определения сывороточных ингибиторов протеолиза / К. Н. Веремеенко, О. П. Голобородько, А. И. Кизим // Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоровья, 1988. – С. 173–181.
10. *Скиба В. Я.* Патогенетические принципы терапии эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки полости рта: автореф. дис... д-ра мед. наук. – К., 1996. – 37 с.
11. *Кізім О. О.* Клініко-біохімічне обґрунтування застосування антипротеазних засобів у терапії хронічних гінгівітів у дітей / О. О. Кізім, Л. О. Хоменко, С. В. Волкова // Дентальні технології. – 2005. – № 1 (20). – С. 38–40.
12. *Есаян З. В.* Факторы неспецифической и специфической защиты в патогенезе ранних форм поражений пародонта / З. В. Есаян // Стоматология. – 2005. – № 1. – С. 58–62.

**В. Н. Бобырев, Н. Н. Девяткина, А. Е. Девяткин**

### **Изучение лечебного действия нового комбинированного геля «Ротрин-Дента» на модели травматического стоматита у крыс**

В статье представлены результаты биохимического исследования лечебного действия нового комбинированного стоматологического геля «Ротрин-Дента» при травматическом стоматите у белых крыс. Оценку терапевтического действия осуществляли на высоте патологического процесса. Установлено, что исследуемый гель эффективно угнетает воспалительную реакцию в слизистой оболочке травмированной щеки: снижались активность эластазы, содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов, что происходило на фоне повышения активности антиоксидантной системы, неспецифической антимикробной защиты и снижения степени дисбиоза ротовой полости. Гель «Ротрин-Дента» проявил более выраженное противовоспалительное и антиоксидантное действие по сравнению с препаратом сравнения гелем «Камидент-Здоровье» и был сопоставим по влиянию на неспецифическую антимикробную защиту и степень дисбиоза в слизистой оболочке щеки, а также на биохимические показатели сыворотки крови.

*Ключевые слова: комбинированный гель «Ротрин-Дента», травматический стоматит, лечебное действие*

**V. N. Bobyrev, N. N. Devyatkina, A. Ye. Devyatkin**

### **Study of therapeutic action of new combined gel «Rotrin-Denta» under the traumatic stomatitis model in rats**

This research was aimed to study biochemical mechanisms of therapeutic action produced by multi-purpose gel «Rotrin-Denta» in white rats with traumatic stomatitis. This pathology was designed by graduated mechanical irritation of buccal mucosa tissue with ophthalmic trepan and was performed under ether narcosis. Gel «Rotrin-Denta» as well as gel «Kamident-Health» (reference product) were applied onto the buccal mucosa twice a day for 3 and 6 days. The duration of single application lasted 2 min. The animals were euthanatized under thiopental narcosis on the 5th and 8th days after traumatic stomatitis modeling. The activity of elastase, catalase, lysozyme and urease as the content of the lipid peroxidation products which reacted with 2-thiobarbituric acid were determined in the buccal mucosa tissue. The activity of trypsin inhibitor, elastase, and lysozyme were also evaluated in blood serum of rats. The intensity of dysbiosis in animals with traumatic stomatitis was calculated. The assessment of the therapeutic effect based on biochemical markers was performed at the height of the pathological process. It has been found out that the applications of experimental gel sufficiently suppresses inflammatory reactions in the injured buccal mucosa which is proven by the decrease in elastase activity as well as by lowering of lipid peroxidation by-products and increase in activity of antioxidant system, non-specific antimicrobial defence and reducing in intensity of oral dysbiosis against indices under pathology. The gel «Rotrin-Denta» has demonstrated more pronounced anti-inflammatory and antioxidant action as compared with the reference product «Camident-Health» and has produced identical effects on non-specific antimicrobial defence and the dysbiosis intensity in the buccal mucosa. The blood serum indices investigated were the same as well.

*Key word: combined gel «Rotrin-Denta», traumatic stomatitis, therapeutic action*

*Надійшла: 23.09.2013 р.*

**Контактна особа:** Дев'яткіна Наталія Миколаївна, аспірант, кафедра експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, буд. 23, вул. Шевченка, 23. Тел.; +38 0 532 56 20 59.

І. В. Бойчук, О. М. Пясковська, О. Р. Мельников,  
Д. Л. Колесник, Г. І. Соляник

## Експериментальне дослідження протипухлинної активності оксирезвератролу

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
імені Р. Є. Кавецького НАН України, м. Київ

*Ключові слова:* оксирезвератрол, карцинома легені Льюїс, антиоксидантна активність, активні форми кисню

Низька специфічність фармакологічної дії протипухлинних препаратів та висока їхня токсичність щодо нормальних органів та тканин організму гостро ставить питання щодо розробки нових ефективних протипухлинних засобів, спрямованих, у першу чергу, на пригнічення метастазування, як основної причини загибелі онкологічних хворих.

Відомо, що побічним продуктом нормального кисневого метаболізму в живих клітинах (нормальних та пухлинних) є активні форми кисню (АФК), що зумовлюють значний вплив на виживаність та функціональну активність клітин [1]. Підвищений рівень АФК є характерним для пухлинних клітин за рахунок дисфункції їхніх мітохондрій та неповноцінності васкулярної сітки в пухлинній тканині, що зумовлює формування в пухлинних клітинах оксидативного стресу [2, 3]. Останній сприяє інвазії та метастазуванню пухлинних клітин, оскільки АФК задіяні в перебудові цитоскелету та клітинній рухливості (що є маркерними властивостями метастатично-активних пухлинних клітин) [4, 5].

Дуалістична роль АФК в онкології (антинеопластична та пронеопластична) вказує на те, що тип пухлинних клітин, їхній редокс потенціал, рівень АФК та тривалість впливу на клітини (чи внутрішньоклітинні процеси) можуть бути детермінантами. Базуючись на цих фактах, у світі проводиться достатньо активний пошук агентів з антиоксидантними власти-

востями, здатними стримувати ріст та/або метастазування злоякісних новоутворень [6].

Рослини є традиційним джерелом фармакологічно активних речовин, у тому числі з протипухлинною активністю [7]. Серед засобів рослинного походження велику увагу останнім часом привертають стилібени, які відносяться до поліфенольних сполук [8, 9]. Уважається, що стилібени проявляють антиоксидантну, протизапальну, кардіотропну та протипухлинну активність [10–13].

До найвідоміших у фармакології стилібенів відносяться резвератрол (3,4',5'-тригідроксистилібен) та оксирезвератрол (2,3',4,5'-тетрагідроксистилібен) [14]. На відміну від резвератролу, протипухлинну активність якого широко досліджували, вивчення фармакологічної активності оксирезвератролу (ОХУ) обмежувалося патологіями, не пов'язаними з онкологічним процесом [15–17]. ОХУ характеризується високою розчинністю у воді, високою біодоступністю, меншою цитотоксичністю відносно нормальних тканин та суттєво вищою антиоксидантною активністю порівняно з резвератролом.

*Мета дослідження* – вивчити протипухлинну та антиметастатичну активність ОХУ відносно високометастатичної карциноми легені Льюїс та встановити можливий зв'язок цієї активності з антиоксидантними властивостями ОХУ.

*Матеріали та методи.* Дослідження проводили на 56 мишах-самках лінії C57/BL6 вагою 18,5–21,5 г, віком 2–2,5 міс розводки віварію Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького (ІЕПОР) НАН України. Усі дослідження на тваринах здійснювали згідно з вимогами регіонального Комітету з



етики роботи з піддослідними тваринами та з додержанням правил роботи з лабораторними тваринами.

Як пухлинну модель було використано карциному легені Льюїс (LLC), отриману з Національного банку клітинних ліній та пухлинних штамів ІЕПОР НАН України. Клітини LLC підтримували *in vitro* за стандартних умов у поживному середовищі RPMI 1640 (Sigma, США) з додаванням 10% ЕТС (Sigma, США) 2 мМ L-глутаміну та 40 мкг/мл гентаміцину при 37 °С за вологих умов, 5% CO<sub>2</sub>, 1·10<sup>6</sup> пухлинних клітин.

Для проведення досліджень мишам лінії С57В1/6 внутрішньом'язово (у праве стегно) перещеплювали 1·10<sup>6</sup> клітин LLC у 0,1 мл розчину Хенкса. Після перещеплення тварин було поділено на дві групи. Мишам дослідної групи (20 тварин) вводили щоденно перорально 5 разів на тиждень протягом 3 тижнів 0,4 мл водного розчину ОХУ (сумарна доза ОХУ складала 0,2 г/кг ваги тварини, що в 5 разів менше за ЛД<sub>50</sub>), починаючи з другого дня після перещеплення пухлинних клітин. Миші контрольної групи (36 тварин) отримували за відповідною схемою дистильовану воду. Кількість уведень – 15.

Вимірювання розміру пухлини проводили кожну третю добу росту пухлин, починаючи з 10-ї доби після її перещеплення. Для цього за допомогою штангенциркуля проводили визначення діаметра пухлини в кожній тварині, після чого вираховували об'єм пухлини за формулою:

$$V = \frac{\pi (d)^3}{6},$$

де d – діаметр пухлини (мм).

На 5 добу після закінчення терапії (25 доба росту пухлини) тварин декапітували під легким ефірним наркозом, видаляли легені та підраховували кількість метастазів (з урахуванням їхнього розміру) та визначали їхній об'єм за формулою:

$$V_M = \sum_1^N \frac{\pi (d_i)^3}{n_i \cdot 6},$$

де V<sub>M</sub> – загальний об'єм метастазів, n<sub>i</sub> – кількість метастазів з діаметром d<sub>i</sub>.

Підрахунок кількості метастазів та визначення їхнього діаметра проводили з використанням біокулярного мікроскопа та міліметрової шкали.

Для визначення можливих механізмів протипухлинної активності ОХУ досліджували:

- цитотоксичну/цитостатичну дію *in vitro*;
- антиоксидатну активність *in vitro*;
- вплив на функціональний стан електрон-транспортного ланцюзі мітохондрій пухлинних клітин *in vivo*.

У дослідженнях *in vitro* клітини висаджували в лунки 24-лункової планшети з початковою щільністю 1,5·10<sup>5</sup> клітин/лунку в середовищі, стандартному за вмістом глюкози та глутаміну. Після закінчення терміну передінкубації середовище замінювали на свіже, а саме: 1) стандартне за вмістом глюкози та глутаміну, 2) дефіцитне за вмістом глюкози, 3) дефіцитне за вмістом глутаміну з додаванням ОХУ у діапазоні концентрацій 0,013–0,500 мг/мл. Кількість клітин у суспензії та їхню життєздатність оцінювали рутинним методом за допомогою прямого підрахунку з використанням 0,4% розчину трипанового синього.

Антиоксидантну активність ОХУ досліджували *in vitro* за здатністю інактивувати активні форми кисню (АФК) у клітинах LLC. Рівень внутрішньоклітинних АФК у пухлинних клітинах визначали з використанням 2,7-дихлорофлуоресцеїн діацетату (Sigma, США) на спектрофлуориметрі (світлофільтр збудження 495 нм, світлофільтр емісії 530 нм) згідно з [18].

Вплив ОХУ на функціональний стан електрон-транспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій пухлинних клітин *in vivo* визначали спектроскопічним методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР). Об'єктом дослідження були тканини пухлини мишей контрольної групи (на 10, 14, 16, 20 та 25 добу росту пухлини) та дослідної групи (на 20 та 25 добу росту LLC), а також м'язова тканина інтактних мишей. З тканини пухлини і стегового м'яза готували циліндричні зразки каліброваних розмірів (d = 4,0 мм, l =

25–35 мм), заморожували та зберігали при температурі 77 К. Записи спектрів ЕПР зразків проводили за низькотемпературних умов (77 К) на спектрометрі E-109 Varian (США) при швидкості розгортки поля 500 Е/хв, амплітуді модуляції  $1,25 \times 10$  Е, потужності НВЧ-випромінювання 10,0 мВт, сталій часу приладу – 1,0 с. За даними спектрів ЕПР оцінювали рівні відновлених залізо-сірчаних центрів ( $g = 1,94$ ) ЕТЛ мітохондрій та нітрозильних комплексів гемового заліза ( $g_{\text{сеп}} = 2,007$ ). Для аналізу динаміки змін показників ЕТЛ у пухлинній тканині (за впливу ОХУ та без нього) за нульове значення (на графіках зображені точкою «0») брали відповідні показники м'язової тканини інтактних мишей.

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили з використанням описативної статистики, нелінійного регресійного аналізу, t-критерію Стьюдента за допомогою програм Microsoft Excel і Microcal Origin.

**Результати та їх обговорення.** Результати дослідження протипухлинної дії оксирезвератролу (ОХУ) показали, що даній сполуці притаманна як проти-

пухлинна, так і антиметастатична активність.

Застосування ОХУ привело до статистично достовірного пригнічення росту та метастазування LLC (таблиця), об'єм первинної пухлини зменшувався на 37% ( $p < 0,05$ ), а кількість метастазів у легені – на 42% ( $p < 0,05$ ). Найсуттєвіше ОХУ впливав на об'єм метастатичного ураження легені, зменшуючи його на 70% ( $p < 0,01$ ).

Слід зауважити, що резвератрол також проявляє виражену антиметастатичну активність відносно карциноми легені Льюїс. Однак на відміну від ОХУ резвератрол зменшує кількість легеневих метастазів у мишей з LLC на 40% при суттєво більших дозах [19].

Виявлена протипухлинна та антиметастатична активність може бути частково обумовлена цитотоксичною/цитостатичною дією ОХУ. У досліджах *in vitro* ОХУ пригнічував ріст пухлинних клітин LLC концентраційно-залежним чином (рис. 1). Така залежність носила моноекспоненційний характер, а концентрація, яка зумовлює зменшення кількості живих клітин на 50% ( $IC_{50}$ ), становила  $0,0580 \pm 0,0005$  мг/мл.

Таблиця

**Протипухлинна та антиметастатична дія ОХУ відносно LLC**

Група тварин	Об'єм первинної пухлини, мм <sup>3</sup>	Кількість легеневих метастазів	Об'єм метастазів, мм <sup>3</sup>
Контрольна	606,7 ± 127,9	38,3 ± 7,8	217,8 ± 42,9
ОХУ	379,3 ± 72,3*	21,8 ± 6,4*	65,1 ± 20,4*

Примітка. \*Значуща ( $p < 0,05$ ) відмінність від показника в контролі.

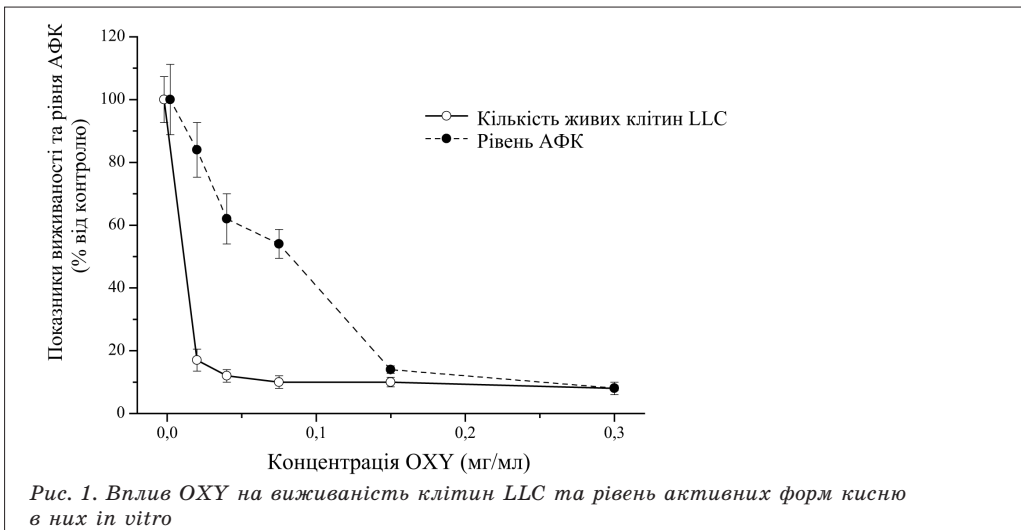


Рис. 1. Вплив ОХУ на виживаність клітин LLC та рівень активних форм кисню в них *in vitro*

Цитотоксична/цитостатична дія ОХУ корелювала з його вираженою антиоксидантною активністю, яка була виявлена в широкому діапазоні його водорозчинних концентрацій та носила концентраційно-залежний характер (рис. 1). При цьому звертає на себе увагу той факт, що ОХУ обумовлював суттєве зниження рівня АФК у клітинах LLC у діапазоні концентрацій, нижчих за  $IC_{50}$ .

Висока антиоксидантна активність ОХУ підтверджується й результатами досліджень його впливу на функціональний стан електрон-транспортного ланцюзі (ЕТЛ) мітохондрій пухлинних клітин *in vivo*.

Відомо, що в ссавців дихальний ланцюг мітохондрій містить чотири ферментні комплекси (комплекси I–IV) та два субстрати-посередники: коензим Q і цитохром c.  $NADH^+$ ,  $H^+$  та  $FADH_2$  – проміжні продукти метаболізму, що забезпечують встановлення протонного електрохімічного градієнта в дихальному ланцюгу мітохондрій, який в кінцевій ланці використовується АТФ-синтазою (комплекс V) для продукції АТФ тільки на енергетичні потреби клітини [20].

Сьогодні можна вважати доведеним, що внесок мітохондрій у функцію клітини значно більший за роль у енергетичному метаболізмі. Вони генерують активні форми кисню та азоту, які є одними з ключових учасників регуляції внутрішньоклітинних процесів, що забезпечують виживаність, проліферативний та метастатичний потенціал пухлинних клітин. Особливу роль в такій регуляції відіграють радикали оксиду азоту ( $NO\cdot$ ), що продукується мітохондріальною  $NO$ -синтазою (mNOS) [21]. У нормальних клітинах «фізіологічний рівень»  $NO\cdot$  регулює процес дихання, модулюючи активність цитохромоксидази (комплекс IV). У пухлинних клітинах концентрація  $NO\cdot$  радикалів зазвичай є вищою, ніж «фізіологічний рівень» (за рахунок підвищеного їх синтезу як mNOS, так і індукцйбельною  $NO$ -синтазою макрофагів, асоційованих в пухлинний процес), що призводить до нітрузування компонентів ЕТЛ мітохондрій і утворення нітрозильних комплексів гемового заліза ( $NO$ -комплекси).

Проведені дослідження показали, що в клітинах LLC уже на 10 добу росту пухлин відмічається утворення  $NO$ -комплексів гемового заліза, які повністю відсутні в м'язовій тканині інтактних тварин (рис. 2 А). У процесі росту LLC рівень  $NO$ -комплексів зростає до 14-ї доби на 200% ( $p < 0,001$ ), і в подальші строки дослідження він практично не змінювався.

У той самий час рівень залізо-сірчаних центрів у ЕТЛ мітохондрій клітин пухлини, починаючи з 14-ї доби росту, був статистично достовірно нижчим на 53% порівняно з відповідним показником інтактного контролю (рис. 2 Б). Прогресивне накопичення нітрозильних комплексів та зменшення рівня залізо-сірчаних центрів свідчить про інгібуючий вплив  $NO\cdot$  радикалів на I та II комплекси ЕТЛ мітохондрій пухлинних клітин, що може обумовлювати порушення синтезу АТФ.

Застосування тваринам ОХУ призводило до суттєвих змін рівня  $NO$ -комп-

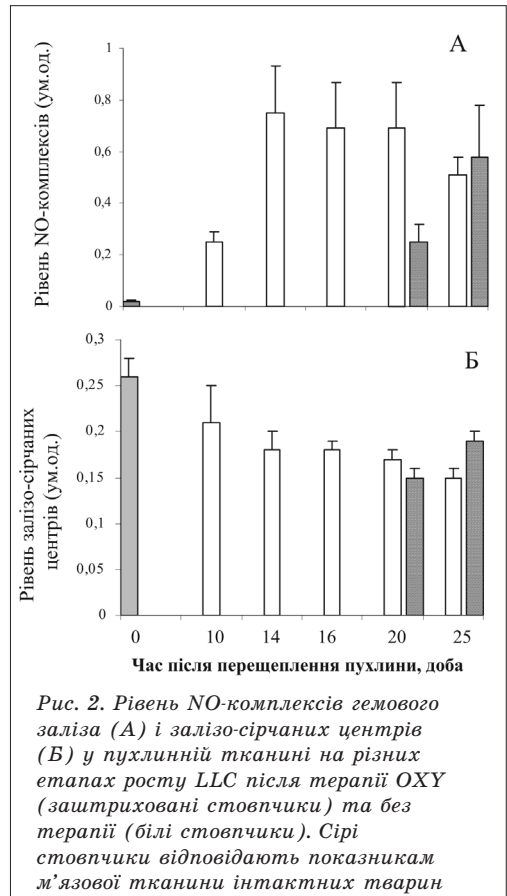


Рис. 2. Рівень  $NO$ -комплексів гемового заліза (А) і залізо-сірчаних центрів (Б) у пухлинній тканині на різних етапах росту LLC після терапії ОХУ (заштриховані стовпчики) та без терапії (білі стовпчики). Сірі стовпчики відповідають показникам м'язової тканини інтактних тварин

лексів гемового заліза в ЕТЛ мітохондрій пухлинних клітин. Згідно з отриманими даними, наприкінці терапії (20 доба росту пухлини) уміст NO-комплексів у тканині LLC достовірно знизився на 76 % ( $p < 0,01$ ), що вказує на здатність ОХУ інактивувати NO радикали в пухлинах LLC. Проте тривалість такого ефекту була незначною, і через п'ять діб після закінчення терапії він повністю зникав (рис. 2 А).

Звертає увагу той факт, що суттєве зниження рівня NO-комплексів після терапії ОХУ (обумовлене, скоріше за все, його антиоксидантною активністю) не супроводжується підвищенням рівня залізо-сірчаних центрів (рис. 2 Б). Більше того, спостерігається тенденція до зниження рівня цих центрів і, як наслідок, погіршення функціонування ЕТЛ мітохондрій у пухлинній тканині, що може вносити свій вклад у протипухлинну активність ОХУ. Не виключено, що суттєве зменшення рівня NO радикалів після введення ОХУ порушує їхню регуляторну функцію відносно процесу клітинної проліферації. Крім того, зменшення рівня активних форм кисню та азоту знижує міграційний та метастатичний потенціал пухлинних клітин.

Таким чином, було показано, що пероральне курсове введення ОХУ у достатньо низьких дозах обумовлює його протипухлинну та антиметастатичну дію відносно карциноми легені Льюїс. Висока антиоксидантна активність ОХУ вносить свій вклад у реалізацію протипухлинної дії.

## Висновки

1. Показано, що щоденне пероральне введення ОХУ протягом трьох тижнів у сумарній дозі 0,2 г/кг ваги тварини обумовлює його протипухлинну та антиметастатичну дію відносно карциноми легені Льюїс.
2. Дослідженнями *in vitro* виявлено цитотоксичну/цитостатичну дію ОХУ відносно клітин LLC, яка носила концентраційно-залежний характер та корелювала з його високою антиоксидантною активністю.
3. Відмічено, що рівень нітрозильних комплексів гемового заліза в тканині LLC наприкінці терапії ОХУ знизився на 76% ( $p < 0,01$ ), що є проявом його антиоксидантної активності до реактивних форм кисню та азоту.

1. Hamanaka R. B. Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling / Hamanaka R. B., Chandel N. S. // *Cur Opin Cell Biol.* – 2009. – V. 21. – P. 894–899.
2. Fiaschi T. Oxidative stress, tumor microenvironment, and metabolic reprogramming: a diabolic liaison / Fiaschi T., Chiarugi P. // *Int J. Cell Biol.* – 2012. – V. 2012. – P. 1–8.
3. Visconti R. New insights on oxidative stress in cancer / Visconti R., Grieco D. // *Curr Opin Drug Discov Devel.* – 2009. – V. 12. – P. 240–245.
4. Rautalahti M. Antioxidants and carcinogenesis / Rautalahti M., Huttunen J. // *Ann Med.* – 1994. – V. 26. – P. 435–441.
5. Pani G. Metastasis: cancer cell's escape from oxidative stress / Pani G., Galeotti T., Chiarugi P. // *Cancer Metastasis Rev.* – 2010. – V. 29, № 2. – P. 351–78.
6. Ortega A. L. Oxidative and Nitrosative Stress in the Metastatic Microenvironment / A. L. Ortega, S. Mena and J. M. Estrela // *Cancers.* – 2010. – V. 2. – P. 274–304.
7. Kimura Y. New anticancer agents: *in vitro* and *in vivo* evaluation of the antitumor and antimetastatic actions of various compounds isolated from medicinal plants / Kimura Y. // *In Vivo.* – 2005. – V. 19. – P. 37–60.
8. Pharmacometrics of Stilbenes: Seguing Towards the Clinic / K. A. Roupe, C. M. Remsberg, J. A. Yanez [et al.] // *Current Clinical Pharmacology.* – 2006. – V. 1. – P. 81101.
9. Synthesis of novel trans-stilbene derivatives and evaluation of their potent antioxidant and neuroprotective effects / J. C. Jung, E. Lim, Y. Lee [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – V. 4. – P. 3166–3174.
10. Radical-scavenging activity and mechanism of resveratrol-oriented analogues: influence of the solvent, radical, and substitution / Y. J. Shang, Y. P. Qian, X. D. Liu, et al. // *J. Org. Chem.* – 2009. – V. 74. – P. 5025–5031.
11. *In vitro* inhibition of Sphaeropsis sapinea by natural stilbenes / C. C. Celimene, D. R. Smith, R. A. Young [et al.] // *Phytochemistry.* – 2001. – V. 56. – P. 161–165.
12. Aburjai T. A. Anti-platelet stilbenes from aerial parts of Rheum palaestinum / Aburjai T. A. // *Phytochemistry.* – 2000. – V. 55. – P. 407–410.
13. Kimura Y. Antitumor activities of synthetic and natural stilbenes through antiangiogenic action / Kimura Y., Sumiyoshi M., Baba K. // *Cancer Sci.* – 2008. – V. 99. – P. 2083–2096.

14. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells / P. Lorenz, S. Roychowdhury, M. Engelmann [et al.] // Nitric Oxide.– 2003.– V. 9.– P. 64–76.
15. Oxyresveratrol (trans-2,3',4,5'-tetrahydroxystilbene) is neuroprotective and inhibits the apoptotic cell death in transient cerebral ischemia / S. A. Andrabi, M. G. Spina, P. Lorenz [et al.] // Brain Res.– 2004.– V. 1017.– P. 98–107.
16. Anti-herpes simplex virus (HSV-1) activity of oxyresveratrol derived from Thai medicinal plant: mechanism of action and therapeutic efficacy on cutaneous HSV-1 infection in mice / T. Chuanasa, J. Phromjai, V. Lipipun [et al.] // Antiviral Res.– 2008.– V. 80.– P. 62–70.
17. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells / Lorenz P., Roychowdhury S., Engelmann M. [et al.] // Nitric Oxide.– 2003.– V. 9, № 2.– P. 64–76.
18. Wang H. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader / Wang H., Joseph J. A. // Free Radic. Biol. Med.– 1999.– V. 27, № 5–6.– P. 612–616.
19. Resveratrol, a natural diphenol, reduces metastatic growth in an experimental cancer model / S. Busquets, E. Ametller, G. Fuster [et al.] // Cancer Lett.– 2007.– V. 245.– P. 144–148.
20. Gogvadze V. Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? / Gogvadze V., Orrenius S. and Zhivotovsky B. // Trends Cell Biol.– 2008.– V. 18, № 4.– P. 165–173.
21. Ghafourifar P. Nitric oxide synthase activity in mitochondria / Ghafourifar P., Richter C. // FEBS Lett.– 1997.– V. 418.– P. 291–296.

**И. В. Бойчук, О. Н. Пясковская, О. Р. Мельников, Д. Л. Колесник, Г. И. Соляник**  
**Экспериментальное исследование противоопухолевой активности оксирезвератрола**

Поиск новых эффективных противоопухолевых агентов является актуальной задачей современной онкологии. Цель исследования – изучить противоопухолевую активность оксирезвератрола (ОХУ) в отношении карциномы легкого Льюис (LLC) у мышей и установить возможную связь этой активности с его антиоксидантными свойствами. Было показано, что ежедневное пероральное введение ОХУ в течение трех недель в суммарной дозе 0,2 г/кг обуславливает противоопухолевый и антиметастатический эффект, проявляющийся в снижении объема первичной опухоли, количества и объема легочных метастазов на 37%, 42%, 70% соответственно. Цитотоксическое действие ОХУ и высокая антиоксидантная активность вносят вклад в противоопухолевую эффективность.

*Ключевые слова:* оксирезвератрол, карцинома легкого Льюис, антиоксидантная активность, активные формы кислорода

**I. V. Boichuk, O. N. Pyaskovskaya, O. R. Melnikov, D. L. Kolesnik, G. I. Solyanik**  
**Anticancer activity of oxyresveratrol: experimental study**

Despite tremendous efforts that have been made in the search for novel drugs, cancer continues to be one of the major cause of human death. Hence, the development of new therapeutic strategies remains a high priority. Natural compounds represent an important source of biologically active substances with therapeutic values. At present great attention is attracted to naturally occurring hydroxystilbenes for their pleiotropic health beneficial effects including anti-oxidant, anti-inflammatory, cardioprotective and anticancer activities. Oxyresveratrol (trans-2,3',4,5'-tetrahydroxystilbene; OXY) despite its high bioavailability and good solubility in aqueous solutions is yet little investigated. The objective of the study was to investigate anticancer activity of OXY against Lewis lung carcinoma (LLC) and to analyze the association of this activity with radical scavenger properties of OXY. It was shown that OXY inhibited LLC cell growth *in vitro* in concentration-dependent manner ( $IC_{50} = 0,058 \pm 0.0005$  мг/мл). Cytotoxic/cytostatic activity of OXY correlated with its marked scavenging-antioxidant properties which was displayed in a wide range of water-soluble concentrations. Moreover OXY in concentrations considerably lower than  $IC_{50}$  caused five-fold reduction of ROS level in LLC cells. Daily per os administration of OXY into LLC bearing mice during three weeks in sufficiently low dose resulted in reducing tumor volume, number and volume of lung metastases on 37%, 42%, 70%, respectively ( $p < 0,05$ ). Revealed antitumor activity was accompanied by both an essential decrease of the level of nitric oxide (NO) heme-iron complexes on 76% ( $p < 0,01$ ) and downtrend of iron-sulfur clusters in electron transport chain of LLC cell mitochondria. The obtained data suggest the involvement of OXY cytotoxicity and high antioxidant activity in suppression of LLC growth and metastasis.

*Key words:* oxyresveratrol, Lewis lung carcinoma, antioxidant activity, reactive oxygen species (ROS)

Надійшла: 12.09.2013 р.

**Контактна особа:** Соляник Галина Іванівна, доктор фізико-математичних наук, відділ фармакокорекції онкогенезу, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, буд. 45, вул. Васильківська, м. Київ, 03022.  
Тел.: +38 0 44 257 94 16. Електронна пошта: gis@onconet.kiev.ua



І. П. Бухтіярова

## Експериментальне дослідження антиоксидантних властивостей ралейкіну за умов дитизонового діабету в кролів

*Донецький національний медичний університет імені Максима Горького*

*Ключові слова: дитизоновий діабет, продукти ПОЛ, параоксоназа, антиоксидантна дія, ралейкін*

У структурі ендокринних захворювань цукровий діабет (ЦД) посідає друге місце після патології щитоподібної залози. У 2012 році в Україні зареєстровано понад 1 млн хворих на ЦД, що складає близько 2% від усього населення країни, з них 10–15% припадає на ЦД I типу [1, 10]. Таким чином, на даний час кожна десята людина в світі страждає на явну чи приховану форму ЦД [4]. Тому оптимізація терапії ЦД сьогодні є однією з актуальних медичних проблем.

Нещодавно було виявлено, що гіперглікемія може індукувати розвиток оксидативного стресу безпосередньо в панкреатичних  $\beta$ -клітинах [14]. При цьому пусковим моментом є зростання продукції вільних радикалів на мітохондріальному рівні внаслідок посиленого внутрішньоклітинного метаболізму глюкози [16]. Накопичено велику кількість даних, що вказують на існування зв'язку між підвищеним рівнем вільних радикалів та інсулінорезистентністю, однієї з ключових ланок патогенезу ЦД [11].

Таким чином, оксидативний стрес при ЦД поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних  $\beta$ -клітин, а це обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів у комплексній терапії ЦД. Особливої уваги заслуговують антидіабетичні препарати, яким поряд з гіпоглікемічним притаманний антиоксидантний ефект, а також здатність зберігати, або поліпшувати секреторну функцію  $\beta$ -клітин.

За даними сучасних досліджень, важливу роль у патогенезі ЦД обох

типів відіграють протизапальні цитокини, а саме інтерлейкін-1 (ІЛ-1) [13, 15].

Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну визначеної в попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії, стало цікаво вивчити його антиоксидантні властивості.

*Мета дослідження* – експериментальне вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на вміст продуктів ПОЛ та активність антиоксидантної системи захисту (АОЗ) на моделі дитизонового діабету в кролів.

*Матеріали та методи.* Дитизоновий діабет викликали одноразовим внутрішньовенним введенням розчину дитизону в дозі 35 мг/кг маси тіла самцям кролів породи Шиншила вагою 2,8–3,4 кг, які попередньо голодували протягом 16–18 год [5].

Як референс-препарати було обрано метформін (Діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінра (Кінерет виробництва «Swedish Orphan Biovitrum» (Швеція), пор. р/і 100 мг). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [11], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною та антиоксидантною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [18].

Дані препарати вводили в лікувальному режимі: ралейкін у дозі 7 мг/кг та анакінру в дозі 8 мг/кг – підшкірно [9], метформін у дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [3, 8] одноразово протягом 30 днів.

На 31 добу брали кров на аналіз. У сироватці крові визначали вміст ТБК-

активних продуктів (ТБК-АП) (Стальная И. Д., Гаришвили Г. Т.), відновленого глутатіону (ВГ) (Beutler E. та ін.), церулоплазміну (метод Ревина), а також активність каталази (Королюк М.А. та ін.) і параоксонази (Eckerson H.W. та ін.) [6].

У разі обліку результатів у вигляді середня  $\pm$  стандартна помилка статистичну достовірність внутрішньогрупових відмінностей оцінювали за парним критерієм Вілкоксона, міжгрупових – за t-критерієм Стьюдента з поправкою Бонфероні та за відсутності нормального розподілу – за критерієм W Уайта, при обліку показників в альтернативній формі – за кутовим перетворенням Фішера.

**Результати та їх обговорення.** Результати дослідження наведено в таблицях 1–2.

За обраної експериментальної моделі розвивається абсолютна інсулінова недостатність прямого  $\beta$ -цитотоксичного генезу: дитизон (8-гідроксибензопіридин) здатний утворювати хелатні комплекси з цинком та індукувати

інсулін-залежний ЦД. Незважаючи на те, що зв'язок між ЦД та порушеннями метаболізму цинку спостерігається як у людини, так і в експериментальних тварин, його роль у патогенезі інсулін-незалежного цукрового діабету залишається ще не до кінця з'ясованою [7].

Вже на другу добу після ін'єкції дитизону в тварин спостерігали різке підвищення базальної гіперглікемії, яке продовжувалося протягом наступних 5 діб і залишалось на досягнутому високому рівні тривалий час. Базальна гіперглікемія також супроводжувалася значним зниженням концентрації інсуліну в сироватці крові. Слід зазначити, що в даному випадку відтворювався тільки абсолютний дефіцит інсуліну без включення аутоімунних компонентів, що характерно для ЦД 1 типу у людини [17, 19].

Як видно з таблиці 1, у сироватці крові кролів групи контрольної патології спостерігалось підвищення вмісту ТБК-АП у 1,6 разу, зниження концентрації ВГ у 2,2 разу та активності каталази в 1,7 разу порівняно з показника-

Таблиця 1

**Показники ПОЛ та антиоксидантного захисту в сироватці крові кролів за умов дитизонового діабету та впливу ралейкіну, n = 5**

Група тварин	ТБК-АП, ммоль/л	ВГ, ммоль/л	Каталаза, мкат/л
Інтактний контроль	76,42 $\pm$ 5,33	0,71 $\pm$ 0,04	1,47 $\pm$ 0,11
Контрольна патологія	124,58 $\pm$ 6,29*	0,32 $\pm$ 0,05*	0,86 $\pm$ 0,06*
Ралейкін, 7 мг/кг	88,83 $\pm$ 5,71***	0,57 $\pm$ 0,07**	1,22 $\pm$ 0,07***
Метформін, 30 мг/кг	118,34 $\pm$ 8,67*	0,49 $\pm$ 0,06*	1,04 $\pm$ 0,09*
Анакінра, 8 мг/кг	90,75 $\pm$ 7,58***	0,52 $\pm$ 0,08	1,11 $\pm$ 0,08*/***

Примітка. Статистично значущі відмінності ( $p \leq 0,05$ ): \*до групи інтактного контролю; \*\*до групи контрольної патології, \*до метформіну; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2

**Уміст церулоплазміну та активність параоксонази в сироватці крові кролів за умов дитизонового діабету та впливу ралейкіну, n = 5**

Група тварин	Церулоплазмін, мкмоль/мл	Параоксоназа, Од/л
Інтактний контроль	224,51 $\pm$ 25,16	92,42 $\pm$ 4,16
Контрольна патологія	368,32 $\pm$ 29,77*	34,23 $\pm$ 2,54*
Ралейкін, 7 мг/кг	275,64 $\pm$ 31,45*	57,76 $\pm$ 3,29*/**
Метформін, 30 мг/кг	293,27 $\pm$ 38,93	63,70 $\pm$ 5,28*/**
Анакінра, 8 мг/кг	249,73 $\pm$ 21,18*	59,31 $\pm$ 4,37*/**

Примітка. Статистично значущі відмінності ( $p \leq 0,05$ ): \*до групи інтактного контролю; \*\*до групи контрольної патології, n – кількість тварин у групі.

ми тварин групи інтактного контролю, що підтверджує ослаблення антиоксидантної системи захисту за умов дитинного діабету.

Ці дані підтверджують важливу роль оксидативного стресу в розвитку ЦД 1 типу. Каталаза та ВГ мають протекторний ефект відносно вільних радикалів, що накопичуються поблизу  $\beta$ -клітин під час інсуліту. За важких форм ЦД спостерігається незворотне глікозування антиоксидантних ферментів, таких як каталаза, з втратою її властивостей і наступною інактивацією, що також сприяє збільшенню ВРО-уражень [2].

На тлі ралейкіну рівень ТБК-АП у сироватці крові кролів достовірно знизився в 1,4 разу, вміст ВГ зріс в 1,8 разу, активність каталази збільшилася у 1,4 разу порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології. Усі показники достовірно не відрізнялись від відповідних показників групи інтактного контролю.

Під дією анакінри рівень ТБК-АП у сироватці крові кролів достовірно знизився в 1,4 разу, вміст ВГ зріс у 1,6 разу, активність каталази збільшилася у 1,4 разу порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології, але зміни вмісту ВГ не були достовірними.

Під впливом метформіну жоден з показників (вміст ТБК-АП, ВГ, активність каталази) достовірно не відрізнявся від показників тварин групи контрольної патології.

Тобто, за нормалізуючим впливом на вміст вторинних продуктів ПОЛ, ВГ та активність каталази ралейкін та анакінра достовірно переважають метформін. Достовірних відмінностей у дії ралейкіну та анакінри не було.

У сироватці крові тварин групи контрольної патології зафіксовано достовірне підвищення концентрації церулоплазміну в 1,6 разу порівняно з показником тварин групи інтактного контролю (табл. 2), що можна пояснити компенсаторною реакцією на оксидативний стрес [11].

Нормалізацію антиоксидантного статусу експериментальних тварин, які отримували ралейкін та анакінру, під-

тверджує зниження концентрації церулоплазміну в сироватці крові в 1,3 та 1,5 разу відповідно порівняно з аналогічним показником у кролів групи контрольної патології (табл. 2). Метформін теж виявив тенденцію до зниження концентрації церулоплазміну в сироватці крові тварин, але ці зміни не були достовірними.

Нормалізацію концентрації церулоплазміну під впливом ралейкіну та анакінри можна розглядати як результат пригнічення оксидативного стресу і ліквідацію основного стимулу для підвищення зазначеного показника.

У результаті проведених досліджень встановлено, що в групі контрольної патології активність антиоксидантного ферменту – параоксонази знизилася в 2,7 разу порівняно з інтактним контролем (табл. 2), що може бути результатом пригнічення його активності внаслідок процесів неферментативного глікозилювання та свідчить про порушення ліпідного обміну в організмі експериментальних тварин [7].

Під впливом ралейкіну та анакінри активність параоксонази зросла в 1,7 разу, на тлі метформіну – у 1,9 разу. Достовірних відмінностей між дією досліджуваних препаратів на активність зазначеного ферменту не зафіксовано. Отримані дані свідчать про здатність препаратів поліпшувати ліпідний обмін експериментальних тварин на тлі модельного діабету.

Отримані результати підтверджують наявність взаємозв'язку між розвитком оксидативного стресу, який характеризується підвищенням рівню вільнорадикального окиснення ліпідів, білків, ДНК й зниженням антиоксидантного захисту. Незважаючи на різні причини загибелі  $\beta$ -клітин за умов ЦД обох типів, детермінуючим чинником, що призводить до прогресуючого зниження маси інсулінпродукуючих клітин і далі – до абсолютної інсулінової недостатності, є зростання генерації активних форм кисню, що призводить до активації апоптозу [7]. Імовірно антидіабетична дія ралейкіну проявляється, у тому числі й за рахунок його антиоксидантних властивостей.

Поєднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з позитивним впливом препарату на початкові реакції неферментативного глікозилювання та глюкозний обмін свідчить про перспективність його застосування в комплексній терапії ЦД 1 типу.

## Висновки

За умов дитизонового діабету у кролів ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект, що проявлявся зни-

женням концентрації продуктів ПОЛ, збільшенням активності антиоксидантної системи, у тому числі активності антиоксидантного та антиатерогенного ферменту – параоксонази в сироватці крові тварин з абсолютною інсуліновою недостатністю. За нормалізуючим впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступається референс-препарату анакінра та перевищує метформін.

1. Балаболкин М. И. Лечение сахарного диабета и его осложнений / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Кремская. – М., 2005. – 512 с.
2. Брюханов А. Л. Каталаза и супероксиддисмутаза: распространение, свойства и физиологическая роль в клетках строгих анаэробов / Брюханов А. Л., Нетрусов А. И. // Биохимия. – 2004. – Т. 69, Вып. 9. – С. 1170–1186.
3. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / В. В. Полторак, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, М. Ю. Горшунська // Ендокринологія. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 249–251.
4. Дедов И. И. Сахарный диабет – опаснейший вызов мировому сообществу / И. И. Дедов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 1. – С. 7–13.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
6. Камышников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т / В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 495 с. – Т. 2. – 463 с.
7. Протективний ефект фенсукцинала щодо розвитку дитизонового діабету у кролів / Н. І. Горбенко, В. В. Полторак, О. І. Гладких, О. В. Іванова // Вісн. фармації. – 2000. – Т. 21, № 1. – С. 44–46.
8. Шумейко О. Г. Експериментальне обґрунтування застосування екстракту з мідії чорноморської (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) у комплексній терапії цукрового діабету: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 – ендокринологія. – Х., 2009. – 153 с.
9. Щокіна К. Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження): автореф. дис. ... докт. фарм. наук: 14.03.05 – фармакологія. – Х., 2011. – 440 с.
10. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности / Ю. И. Сунцов, Л. Л. Болотская, О. В. Маслова [и др.] // Сахарный диабет. – 2011. – № 1. – С. 15–18.
11. *Baynes J. W.* Role of oxidative stress in development of complications in diabetes / J. W. Baynes // *Diabetes.* – 1991. – V. 40, № 4. – P. 405–412.
12. *Beisswenger P.* Metformin inhibition of glycation processes / P. Beisswenger, D. Ruggiero-Lopez // *Diabetes. Metabol.* – 2003. – V. 29, № 4. – P. 6S95–6S103.
13. *Borjesson A.* Altered proinsulin conversion in rat pancreatic islets exposed long-term to various glucose concentrations or interleukin-1beta / A. Borjesson, C. Carlsson // *J. Endocrinol.* – 2007. – V. 192 (2). – P. 381–387.
14. *Foley J. E.* Rationale and application of fatty acid oxidation inhibitors in treatment of diabetes mellitus / J. E. Foley // *Diabetes Care.* – 1992. – V. 15, № 7. – P. 773–784.
15. Human tumor necrosis factor potentiates human interleukin 1-mediated rat pancreatic beta-cell cytotoxicity / T. Mandrup-Poulsen, K. Bendtzen, C. A. Dinarello [et al.] // *J. Immunol.* – 1987. – V. 139 (12). – P. 4077–4082.
16. *Kennedy L. A.* Glycation, oxidation and lipoxidation in the development of diabetic complications / L. A. Kennedy, T. J. Lyons // *Metabolism.* – 1997. – V. 46, № 12 (Suppl. 1). – P. 14–21.
17. Mechanisms of pancreatic  $\beta$ -cell death in type 1 and type 2 diabetes. Many differences, few similarities / M. Snop, N. Welsh, J. C. Jonas [et al.] // *Diabetes.* – 2005. – V. 54, Suppl. 2. – P. S97–S107.
18. Treatment with Anakinra Improves Disposition Inde But Not Insulin Sensitivity in Nondiabetic Subjects with the Metabolic Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study / E. J. P. van Asseldonk, R. Stienstra, T. B. Koenen [et al.] // *J. Clin Endocrinol Metab.* – 2011. – V. 96, № 7. – P. 2119–2126.
19. Zinc and insulin sensitivity / P. Faure, A. Roussel, C. Coudray [et al.] // *Biol. Trace Elements Res.* – 1992. – V. 32, № 3. – P. 305–310.

---

**И. П. Бухтиярова**

**Экспериментальное исследование антиоксидантных свойств ралейкина в условиях дитизонового диабета у кролей**

В структуре эндокринных заболеваний сахарный диабет (СД) занимает второе место после патологии щитовидной железы. Поэтому оптимизация терапии СД сегодня является одной из актуальных медицинских проблем. Доказано, что гипергликемия может индуцировать развитие оксидативного стресса непосредственно в панкреатических  $\beta$ -клетках. По данным современных исследований важную роль в патогенезе СД обоих типов играют противовоспалительные цитокины, а именно, интерлейкин-1 (ИЛ-1). Учитывая наличие у рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина определенного в предыдущих исследованиях гипогликемического действия, представляло интерес изучить его антиоксидантные свойства. В работе приведены результаты экспериментального изучения антиоксидантных свойств рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина модели дитизонового диабета у кролей. Определено, что ралейкин оказывает выраженный антиоксидантный эффект, снижая концентрацию вторичных продуктов ПОЛ, увеличивая активность антиоксидантной системы животных и повышая активность антиоксидантного и антиатерогенного фермента – параоксоназы в сыворотке крови животных с абсолютной инсулиновой недостаточностью. По нормализующему воздействию на вышеупомянутые показатели ралейкин не уступает референс-препарату анакинра и превышает метформин. Сочетание антиоксидантных свойств ралейкина с положительным влиянием препарата на начальные реакции неферментативного гликозилирования и глюкозный обмен свидетельствует о перспективности его применения в комплексной терапии СД 1 типа.

*Ключевые слова:* дитизоновый диабет, продукты ПОЛ, параоксоназа, антиоксидантное действие, ралейкин

**I. P. Buhtiyarova**

**Experimental study of raleukin antioxidant effect in dithizone diabetes in rabbits**

In the structure of endocrine diseases diabetes mellitus takes the second place after the thyroid gland pathology. So, the optimization of diabetes therapy is one of the most topical medical problems nowadays. It was proved that hyperglycemia can induce the development of oxidative stress directly in the pancreatic  $\beta$ -cells. According to the data of modern researches, an important role in pathogenesis of both types of diabetes play anti-inflammatory cytokines, such as interleukin-1 (IL-1). The presence of hypoglycemic effect of the recombinant receptor antagonist IL-1 that was defined in previous studies, promote to study its antioxidant effect. The article shows the results of the experimental study of antioxidant effect of the recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin in the dithizone diabetes model in rabbits. It was determined that raleukin has pronounced antioxidant effect, reducing the concentration of secondary products of lipid peroxidation, increasing the activity of antioxidant system of animals and increasing the activity of antioxidant and anti-atherogenic enzyme – paraoxonase in the blood serum of animals with an absolute insulin deficiency. The data obtained provide evidence that raleukin is not inferior to the reference drug anakinra and has more prominent effect than metformin. The combination of antioxidant effect with positive influence of raleukin on the initial reaction of non-enzymatic glycosylation and glucose metabolism suggests that raleukin administration will effective in complex therapy of diabetes mellitus 1st type.

*Key words:* dithizone diabetes, lipid peroxidation products, paraoxonase, antioxidant effect, raleukin

Надійшла: 28.10.2013 р.

---

**Контактна особа:** Бухтіярова І. П., Донецький національний медичний університет імені Максима Горького, буд. 16, пр. Ілліча, м. Донецьк, 83003. Тел.: + 38 062 385 95 04.



## Чутливість мікоплазм до похідних арилаліфатичних аміноспиртів

<sup>1</sup>ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, м. Київ

**Ключові слова:** мікоплазми, мікроорганізми, похідні арилаліфатичних аміноспиртів, антибіотики

Найдрібнішими мікроорганізмами, що здатні викликати захворювання в людини, є представники класу *Mollicutes* (мікоплазми). Сьогодні описано понад 120 видів мікоплазм, із яких 16 виділено від людини [1, 2].

Загальними властивостями молікутів є малі розміри клітини (150–225 нм), «виродження» геному, відсутність клітинної стінки, чіткий полімофізм, а для деяких представників – здатність розмножуватись у безклітинному середовищі (на відміну від вірусів та хламідій). Ці мікроорганізми колонізують слизові оболонки очей, дихальної, травної та сечостатевої системи, зумовлюють захворювання органів та систем: дихальної, сечовидільної, статеві тощо. У дітей, особливо в новонароджених, мікоплазми здатні призводити до генералізації процесу та летальності [3].

Факторами патогенності цих збудників є тропність до епітеліальних клітин, гемадсорбційні, гемолітичні та цитотоксичні властивості.

Серед гострих респіраторних захворювань верхніх дихальних шляхів питома вага мікоплазмозів складає 5–6%, при гострих пневмоніях – 22%, а в період епідемічних спалахів частота пневмоній, обумовлених мікоплазмами, сягає 50%. Високий рівень захворюваності пневмонією мікоплазмової етіології відмічається в ізольованих колективах, зокрема, у дошкільних дитячих установах, школах, військових підрозділах [2, 4–6].

Мікоплазми здатні викликати риносинусит, фарингіт, ларингіт, гострі форми гаймориту та інші патологічні стани [2]. Натепер доведена також роль

мікоплазм у розвитку атеросклерозу [7], артриту [3], отиту [10].

Із мікоплазмовою інфекцією пов'язують широкий спектр урогенітальних захворювань – уретрит, простатит, пієлонефрит, дисплазію слизових оболонок, післяпологовий ендометрит, патології вагітності, безпліддя в чоловіків та жінок та ін. Ці захворювання здатні викликати: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *M. primum*, *M. fermentans*, *M. genitalium*, *M. spermatophilum* та *M. penetrans*. Мікоплазми виявляють у 80% жінок із симптомами генітальної інфекції й у 51% жінок з порушенням репродуктивної функції [3, 8, 9].

Лікування інфекцій, викликаних мікоплазмами, повинно бути комплексним і включати застосування антибіотиків, засобів для симптоматичної терапії та імунокоректорів [3, 10]. Найважливішим у терапії, звичайно, є раціональний вибір антибактеріального засобу.

Оскільки молікути не мають клітинної стінки, вони є нечутливими до антибіотиків, механізм дії яких пов'язаний з пригніченням синтезу пептидоглікану. Для лікування захворювань, обумовлених цими бактеріями, використовують досить обмежений перелік антимікробних засобів – антибіотики групи тетрацикліну, макроліди, фторхінолони (крім налідиксової кислоти), лінкозаміди [3, 10, 11].

Крім того, для мікоплазм, як і для інших патогенів людини, описана резистентність до антибіотиків. Перші повідомлення щодо резистентності до тетрацикліну з'явилися ще в 1976 році [12]. За останніми даними, частота виявлення генітальних молікутів, нечутливих до цього антибіотика, у деяких популяціях сягає 40% [13].

Особливо небезпечним є поширення резистентності до макролідів, оскільки саме до цього класу антимікробних сполук входять препарати вибору для лікування мікоплазмозових інфекцій у дітей (фторхінолони та тетрацикліни часто викликають у цієї категорії пацієнтів тяжкі побічні ефекти) [14].

Штами *M. pneumoniae* з резистентністю до макролідів у Китаї в 2008 році зустрічалися з частотою 68,9%, а в наступні роки – уже до 90% і більше [15–18]. У Японії перші резистентні штами було виявлено в 2000 році, а за останніми даними їхня частка становить до 93% [19]. Повідомлення про нечутливі до макролідів штами *M. pneumoniae* надходили також з Франції, США та інших країн [13].

Слід враховувати й деякі особливості застосування антибіотиків, не пов'язані з розвитком та поширенням резистентності. Наприклад, при терапії уражень мозку в недоношених дітей доксициклін неефективний, а еритроміцин викликає вазотропні побічні ефекти [20]. Крім того, такі представники класу *Mollicutes*, як уреаплазми є природно нечутливими до кліндаміцину, лінкоміцину, помірно чутливими до спіраміцину [1].

Обмеженість спектра антибіотиків, що є ефективними при мікоплазмозах, формування й розповсюдження стійкості до них, і, як наслідок, недостатня ефективність терапії, свідчить про необхідність проведення скринінгових досліджень з метою виявлення активних сполук та розробки на їхній основі нових ефективних та безпечних лікарських засобів. У цьому плані перспективними є представники групи похідних арилаліфатичних аміноспиртів, які мають виразну антибактеріальну активність відносно грамозитивних та грамнегативних бактерій (мінімальна інгібуєча концентрація (МІК) відносно грамозитивних бактерій складає від 1,25 до 20 мкг/мл, відносно грамнегативних – від 3,12 до 20 мкг/мл).

**Мета дослідження** – визначення активності вперше синтезованих похідних арилаліфатичних аміноспиртів від-

носно представників класу *Mollicutes* – *Mycoplasma pneumoniae* та *Acholeplasma modicum*.

**Матеріали та методи.** Активність похідних арилаліфатичних аміноспиртів відносно мікоплазм визначали методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі СМ ІМВ - 72. Експерименти проведено з використанням еталонних тест-штамів мікоплазм: *Mycoplasma pneumoniae* ATCC 15531 та *Acholeplasma modicum* Leach 1973 - ATCC 29102 (NCTC 10134). Для вирощування тест-мікроорганізмів використовували поживне середовище складу: гідролізат м'язів серця бика – 335,0 мл, настій м'яза серця бика – 335,0 мл, дріжжовий екстракт 25% – 100,0 мл, ферментативний гідролізат казеїну – 2,0 г, ДНК – 0,02 г, натрію хлорид – 5,0 г, сироватка коня – 200 мл, ацетат талію – 0.001 г, бензилпеніцилін – до концентрації 1000 ОД/мл (рН 7,5–7,8).

Чутливість мікоплазм до дії нових сполук оцінювали за показником мінімальної інгібуєчої концентрації (МІК). МІК вважали максимальне розведення сполуки, при якому візуально ріст мікроорганізмів не спостерігався. Щільність інокуляту складала  $10^9$  КУО/мл поживного середовища. Результати дослідження враховували через 48 і 72 год культивування при температурі 32 °С.

Експерименти повторювали тричі. Досліди супроводжували відповідними контролями, а саме: контролем середовища та контролем росту мікроорганізмів.

Сполуки синтезовані в Інституті органічної хімії НАН України канд. фарм. наук Ю. В. Коротким.

**Результати та їх обговорення.** Проведеними дослідженнями встановлено, що вперше синтезовані похідні алкоксиамінопропанолу проявляють активність відносно мікоплазм, МІК знаходиться в межах концентрацій 3,12–25 мкг/мл (таблиця).

Дані таблиці свідчать, що найвиразніша активність відносно *Acholeplasma modicum* ATCC 29102 виявлена в сполуки КВМ-204, МІК складає 3,12 мкг/мл. Сполуки КВМ-114 та КВМ-194 інгі-

## Чутливість мікоплазм до дії похідних алкоксіамінопропанолу

Шифр сполук	МІК, мкг/мл	
	<i>Acholeplasma modicum</i> ATCC 29102	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> ATCC 15531
КВМ-101	12,5	-
КВМ-111	25	-
КВМ-114	6,25	6,25
КВМ-194	6,25	6,25
КВМ-204	3,12	4,68

Примітка. «-» – дослідження не проводилися.

бують ріст та розмноження *Acholeplasma modicum* у концентрації 6,25 мкг/мл, а інгібуючий вплив КВМ-101 та КВМ-111 відносно цього мікроорганізму є незначним (МІК становить 12,5 та 25 мкг/мл відповідно).

Чутливість до вперше синтезованих арилаліфатичних аміноспиртів виявила і *M. pneumoniae*. Так, найактивнішою відносно *M. pneumoniae* є сполука КВМ-204, МІК становить 4,68 мкг/мл. Уперше синтезовані сполуки КВМ-114 та КВМ-194 пригнічують ріст та розмноження цього мікроорганізму в концентрації 6,25 мкг/мл.

За ступенем інгібуючої дії вперше синтезовані похідні арилаліфатичних аміноспиртів наближаються до активності гентаміцину, лінкоміцину та стрептоміцину (МІК становить 2,5 мкг/мл) [21] та поступаються таким антимікробним засобам, як кларитроміцин (МІК < 0,06 мкг/мл) [22], тетрациклін (МІК < 2,0 мкг/мл) [23], моксифлоксацин (МІК < 0,12 мкг/мл) та рокситроміцин (МІК < 0,25 мкг/мл) [22].

Отримані результати є важливими для встановлення механізму дії вперше синтезованих похідних арилаліфатичних аміноспиртів. Чутливість мікоплазм до дії сполук свідчить, що механізм їхньої антибактеріальної активності не зумовлений впливом на зовнішню мембрану та її компоненти і не пов'язаний з порушенням синтезу пептидоглікану.

Таким чином, результати проведених експериментів показали перспективність пошуку активних відносно мікоплазм сполук серед похідних арилаліфатичних аміноспиртів з метою створення нових ефективних і безпечних лікарських засобів. У подальшому для встановлення мішені дії цього ряду сполук на клітини мікоплазм необхідно вивчити структурно-функціональні особливості цитоплазматичної мембрани цих мікроорганізмів за умови впливу різних концентрацій похідних арилаліфатичних аміноспиртів, а також дослідити їхній вплив на вміст білка й нуклеїнових кислот.

1. К вопросу о роли микоплазм в урогенитальной патологии / В. Н. Прилепская, В. И. Кисина, Е. В. Соколовский [и др.] // Инфекции в акушерстве и гинекологии. – 2007. – Т. 09, № 1. – С. 31–38.
2. Новиков Ю. К. Атипичные пневмонии / Ю. К. Новиков // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://rmj.ru/articles\\_1100.htm](http://rmj.ru/articles_1100.htm).
3. Немченко О. И. Урогенитальный микоплазмоз (обзор литературы) / О. И. Немченко, Е. В. Уварова // Дерматология. – 2007. – № 2. – С. 28–37.
4. Fonseca-Aten M. Evaluation of LBM415 (NVP PDF-713), a Novel Peptide Deformylase Inhibitor, for Treatment of Experimental *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia / M. Fonseca-Aten, C. M. Salvatore, A. Mejias // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2005. – V. 49, № 10. – P. 4128–4136.
5. Тартаковский И. С. Современные подходы к диагностике атипичных пневмоний / И. С. Тартаковский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 60–68.
6. Руководство по инфекционным болезням / Под ред. Ю. В. Лобзина, С. С. Козлова, А. Н. Ускова. – СПб.: Феникс, 2001. – С. 48–52.
7. Микоплазменные инфекции и инфаркт миокарда / И. П. Арлеевский, О. А. Чернова, Л. А. Ганеева [и др.] // Российский кардиологический журнал: Научно-практический медицинский журнал. – 2003. – № 4. – С. 17–23.

8. Taylor-Robinson D. Genital Mycoplasma infections / Taylor-Robinson D., Furr P. M. // Wien Klin Wochenschr.– 1997.– V. 109, № 1415.– С. 578–683.
9. Uuskula A. Genital Mycoplasmas, including Mycoplasma genitalium, as sexually transmitted agents / Uuskula A., Kohl P.K. // Int J STD AIDS.– 2002.– V. 13, № 2.– P. 79–85.
10. Роль хламидийной и микоплазменной инфекции в этиологии заболеваний ЛОР-органов / В. Т. Пальчун, Т. С. Полякова, С. В. Нечаева [и др.] А. М. Поливода // [Электронный ресурс].– Режим доступа: <http://www.mediasphera.ru/journals/detail/8823>.
11. Waites K. B. Comparative *In Vitro* Activities of the Investigational Fluoroquinolone DC-159a and Other Antimicrobial Agents against Human Mycoplasmas and Ureaplasmas / K. B. Waites, D. M. Crabb, L. B. Duffy // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2008.– V. 52, № 10.– P. 3776–3778.
12. Spaepen M. S. Tetracycline-Resistant T-Mycoplasmas (*Ureaplasma urealyticum*) from Patients with a History of Reproductive Failure / M. S. Spaepen, R. B. Kundsinn, H. W. Horne // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 1976.– V. 9, № 6.– P. 1012–1018.
13. Waites B. Comparative *In Vitro* Susceptibilities of Human Mycoplasmas and Ureaplasmas to a New Investigational Ketolide, CEM-101 / K. B. Waites, D. M. Crabb, L. B. Duffy // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2009.– V. 53, № 5.– P. 2139–2141.
14. Clinical Evaluation of Macrolide-Resistant Mycoplasma pneumoniae / S. Suzuki, T. Yamazaki, M. Narita [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2006.– V. 50, № 2.– P. 709–712.
15. Surveillance of Macrolide-Resistant Mycoplasma pneumoniae in Beijing, China, from 2008 to 2012 / F. Zhaoa, G. Liub, J. Wuc [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2012.– V. 57, № 3.– P. 1521–1523.
16. Xin D. Molecular Mechanisms of Macrolide Resistance in Clinical Isolates of Mycoplasma pneumoniae from China / D. Xin, Z. Mi, X. Han // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2009.– V. 53, № 5.– P. 2158–2159.
17. Liu Y. Antimicrobial Susceptibility of Mycoplasma pneumoniae Isolates and Molecular Analysis of Macrolide-Resistant Strains from Shanghai, China / Y. Liu, X. Ye, H. Zhang // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2009.– V. 53, № 5.– P. 2160–2162.
18. Antibiotic Sensitivity of 40 Mycoplasma pneumoniae Isolates and Molecular Analysis of Macrolide-Resistant Isolates from Beijing, China / F. Zhaoa, M. Lv, X. Tao [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2012.– V. 56, № 2.– P. 1107–1109.
19. Nationwide Surveillance of Macrolide-Resistant Mycoplasma pneumoniae Infection in Pediatric Patients / Y. Kawai, N. Miyashita, M. Kubo [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2013.– V. 57, № 8.– P. 4046–4049.
20. Савичева А.М. Генитальные микоплазмы – проблемы диагностики и лечения / А. М. Савичева, Е. В. Шпицына, М. А. Башмакова // Клиническая дерматология и венерология.– 2008.– № 6.– С. 80–90.
21. Hayes M. M. *In Vitro* Antibiotic Susceptibility Testing of Different Strains of Mycoplasma fermentans Isolated from a Variety of Sources / M. M. Hayes, H.– H. Foo, H. Kotani // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 1993.– V. 37, № 11.– P. 2500–2503.
22. Kenny G. E. Susceptibilities of Mycoplasma hominis, M. pneumoniae, and Ureaplasma urealyticum to GAR-936, Dalbopristin, Dirithromycin, Evernimicin, Gatifloxacin, Linezolid, Moxifloxacin, Quinu- pristin-Dalbopristin, and Telithromycin Compared to Their Susceptibilities to Reference Macrolides, Tetracyclines, and Quinolones / G. E. Kenny F. D. Cartwright // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2001.– V. 45, № 9.– P. 2604–2608.
23. Kenny G. E. Susceptibilities of Mycoplasma hominis, Mycoplasma pneumoniae and Ureaplasma urealyticum to New Glycylcyclines in Comparison with Those to Older Tetracyclines / G. E. Kenny F. D. Cartwright // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 1994.– V. 38, № 11.– P. 2628–2632.

**М. Л. Дронова, Е. С. Коробкова, Н. А.Врынчану, И. П.Токовенко**  
**Чувствительность микоплазм к производным арилалифатических**  
**аминоспиртов**

Вещества из группы производных арилалифатических аминоспиртов имеют выраженную анти-микробную активность. Были проведены исследования способности впервые синтезированных соединений ингибировать рост микоплазм. Наиболее активными относительно *Acholeplasma modicum* и *Mycoplasma pneumoniae* являются соединения КВМ-204 (МИК составляет 3,12 и 4,68 мкг/мл соответственно), КВМ-114 и КВМ-194 (МИК составляет 6,25 мкг/мл для обоих видов). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности поиска веществ с антимиоплазменной активностью среди производных арилалифатических аминоспиртов. Кроме того, наличие чувствительности микоплазм позволяет сделать вывод о механизме антимиоплазменного действия соединений, который обусловлен влиянием на внутриклеточные процессы и/или плазматическую мембрану и не связан с воздействием на внешнюю мембрану бактерий и нарушением синтеза пептидогликана.

Ключевые слова: микоплазмы, микроорганизмы, производные арилалифатических аминоспиртов, антибиотики

---

---

**M. L. Dronova, K. S. Korobkova, N. O. Vrynchanu, I. P. Tokovenko**  
**Susceptibility of mycoplasmas to aryl aliphatic aminoalcohol derivatives**

Mycoplasmas are the pathogens associated with severe human diseases. One of the most considerable reasons of its treatment difficulty is the shortage of active antimycoplasmal agents. The aim of our research was to study susceptibility of mycoplasmas to newly synthesized aryl aliphatic aminoalcohol derivatives. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined by the broth dilution method. It was shown, that compounds inhibit growth of *Acholeplasma modicum* and *Mycoplasma pneumonia*. The most active compounds are KVM-204 (MICs are 3,12 and 4,68 mg/ml respectively), KVM-114 and KVM-194 (MICs are 6,25mg/ml for both strains). Obtained data provide evidence for perspectivity of future research of aryl aliphatic aminoalcohol derivatives as new antimycoplasmal antibiotics. Our results suggests the possible mechanism of the compound's action, which can't be concerned with peptidoglycan synthesis and outer membrane. The main target could be intracelullar processes and/or cytoplasmic membrane.

*Key words: mycoplasmas, microorganisms, aryl aliphatic aminoalcohol derivatives, antibiotics*

*Надійшла: 04.10.2013 р.*

---

**Контактна особа:** Дронова Марія Леонідівна, аспірантка, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03057.  
Тел.: +38 (093) 245-96-35. Електронна пошта: ml\_dronova@mail.ru



К. І. Клименко<sup>1</sup>, Т. В. Новохацька<sup>1</sup>, І. В. Кізуб<sup>1</sup>,  
В. Є. Досенко<sup>2</sup>, А. І. Соловійов<sup>1</sup>

## Вплив сайленсингу генів $\alpha$ та $\delta$ ізоформ протеїнкінази С на іонну каналопатію та ендотеліальну дисфункцію аорти діабетичних щурів

<sup>1</sup>ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

<sup>2</sup>Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ

*Ключові слова:* судинні ускладнення цукрового діабету, гладеньком'язові клітини, калієві канали, протеїнкіназа С, РНК-інтерференція

Мікросудинні та макросудинні ускладнення, що розвиваються як за I, так і за II типу цукрового діабету, є головною причиною інвалідизації та смертності хворих [1]. Серед основних порушень функціонування судин за умов діабету варто зазначити дисбаланс між процесами констрикції та дилатації внаслідок порушення функціонування ендотеліальних (ЕК) та гладеньком'язових клітин (ГМК) судинної стінки. У дослідженні зосереджено увагу на ендотелій-залежній вазодилатації, що є основним показником функціонування ендотелію [2] та  $K^+$ -провідності плазматичної мембрани ГМК – основного фактора гіперполяризації судинних ГМК та розслаблення судин [3].

Більшість досліджень з обраної тематики стверджує, що основною причиною розвитку судинної дисфункції за умов діабету є гіперглікемія [4, 5], хоча існують роботи, які вказують на те, що самої гіперглікемії може бути недостатньо [6].

Важливим глюкозо-індукованим фактором, що призводить до порушення функціонування як ГМК, так і ЕК судинної стінки, є активація регуляторного ферменту протеїнкінази С (ПКС) [7]. Сьогодні виділяють 12 ізоформ ПКС, які за структурними характеристиками та умовами активації розділені на три підродини: класичну

(ізоформи  $\alpha$ ,  $\beta I$ ,  $\beta II$ ,  $\gamma$ ), новітню (ізоформи  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ,  $\theta$ ,  $\mu$ ) та атипову (ізоформи  $\zeta$ ,  $\lambda$ ) ПКС [7].

Серед численних ізоформ ПКС, виявлених у судинній стінці [7, 8], значну роль у розвитку судинних ускладнень цукрового діабету відіграють  $\alpha$  та  $\delta$  ізоформи [9, 7, 10]. Відомо, що ПКС має модулюючий вплив на численні клітинні процеси як в ГМК, так і в ЕК, серед яких проліферація, диференціація та міграція, проникненість, скоротливість, ріст та апоптоз, активність іонних каналів та продукція реактивних форм кисню (РФК) [11, 12]. Саме тому актуальність пошуку нових шляхів регуляції активності ПКС не викликає сумніву.

Не зважаючи на багаторічні дослідження ізоформ ПКС, все ще залишаються дискусійними питання їх залучення до розвитку судинних ускладнень цукрового діабету, регуляції експресії та активації.

Натепер стрімко розвивається технологія РНК-інтерференції (РНКі), за допомогою якої є можливим дослідження функціонування та регуляція активності будь-якої молекулярної структури, для якої відома послідовність кодуючого гена [13, 14].

*Мета дослідження* – встановити роль ПКС- $\alpha$  та ПКС- $\delta$  у розвитку ендотеліальної дисфункції та іонної каналопатії в ГМК аорти діабетичних щурів, а також ефективність блокування експресії даних ізоформ та оцінити можливість корекції судинної дисфункції в щурів із цукровим діабетом за допомогою малих інтерферуючих РНК (міРНК).

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на статевозрілих самцях щурів лінії Wistar (180–200 г). Усі досліди були проведені відповідно до вимог Європейської конвенції захисту тварин, що використовуються в експериментальних та інших цілях, та були ухвалені Комітетом з етики.

**Індукція діабету.** Діабет був індукований одноразовою внутрішньоочеревинною ін'єкцією стрептозотоцину (STZ) у дозі 60–65 мг/кг. STZ розчиняли в цитратному буферному розчині, який містив 0,9% NaCl та 10 мМ цитрату, рН = 4,6. Визначення експериментального діабету проводили за наявністю гіперглікемії через 1 міс після ін'єкції STZ і в день експерименту в тварин усіх груп. Концентрацію глюкози визначали, застосовуючи глюкозиметр Bionime (BIONIME Rightest GM 300, Швейцарія).

**Виділення гладеньком'язових клітин аорти щурів.** Досліди проводили на ГМК аорти щурів. Після попередньої анестезії (кетамін – 45 мг/кг, ксилазин – 10 мг/кг) тварини були евтоназовані шляхом декапітації з наступним знекровленням. ГМК виділяли з торакальної аорти, яку попередньо очищали від сполучної тканини та витримували протягом 5–10 хв у безкальцієвому розчині Кребса наступного складу (у ммоль/л): 140 NaCl, 5,9 KCl, 2,5 MgCl<sub>2</sub>, 11,5 глюкози, 10 HEPES (рН 7,4). Ділянку аорти довжиною 1,0–1,5 см розрізали на сегменти розміром 2 × 2 мм, та інкубували протягом 33 хв при температурі 37 °С у номінально безкальцієвому розчині Кребса з додаванням колагенази типу IA (2 мг/мл), пронази Е (0,5 мг/мл), бичачого сироваткового альбуміну (2 мг/мл). Потім сегменти тканини відмивали від ферментів у безкальцієвому розчині та виділяли клітини шляхом багаторазового піпетування. ГМК, що зберігали в холодильнику при температурі + 5 °С, залишалися в функціональному стані протягом 4 год.

**Реєстрація скоротливої активності.** Реєстрацію скоротливої активності проводили в ізометричному режимі на ізольованих кільцевих сегментах аорти, яку виділяли вищезазначеним спосо-

бом. Відпрепаровану ділянку грудної аорти нарізали на кільцеві сегменти шириною 1–2 мм та внутрішнім діаметром 1,5–2,0 мм, під кутом близько 45° і розміщували у проточній плексигласовій камері об'ємом 0,5 мл та підтримуваною температурою 37 °С. Закріплені на двох сталевих гачках судинні сегменти підлягали попередньому пасивному розтягненню з силою 1300–1400 мг. Їх перфузували буферним розчином Кребса із сталою швидкістю 1,5 мл/хв за допомогою 4-канального перистальтичного насоса IPS ISM 930 «Ismatec» (Німеччина). Для визначення ендотелій-залежної вазодилатації застосовували аплікацію ацетилхоліну (АХ) у концентрації 1 нМ – 10 мкМ на попередньо скорочені норадреналіном (НА, 10<sup>-6</sup> М) судинні препарати. Вазодилатацію виражали у відсотках від скорочення, викликаного НА. Аплікацію всіх застосованих фармакологічних агентів здійснювали за допомогою перфузійної системи.

**Реєстрація вихідного струму.** Вихідний трансмембранний струм вимірювали за допомогою методу фіксації потенціалу (patch-clamp) у модифікації «whole-cell perforated patch» із використанням антибіотика амфотерицину В. Реєстрацію іонних струмів проводили за допомогою підсилювача Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., USA), аналого-цифрового перетворювача (АЦП) Digidata 1200B (Axon Instruments Inc., USA) та програмного забезпечення pClamp Software (V.6.02, Axon Instruments Inc., USA). Сигнал з виходу підсилювача надходив крізь фільтр низьких частот (частота зрізу 2 кГц) на АЦП і оцифровувався з частотою дискретизації 10 кГц. Типові значення мембранного опору клітин у наших експериментах складали 2–5 ГОм. Іонні струми були нормалізовані до пА/пФ. Індиферентний Ag-AgCl-електрод було розміщено безпосередньо в камері для клітин об'ємом 200 мкл. Мікропіпетки виготовляли з боросилікатного скла (Clark Electromedical Instruments, Pangbourne Reading, England) та заповнювали розчином наступного складу (у ммоль/л): 140 KCl; 10 NaCl; 1,2 MgCl<sub>2</sub>; 10 HEPES; 2,5 CaCl<sub>2</sub>;

11,5 D-глюкоза (рН 7,3); 250 мкг/мл амфотерицин В. Опір піпеток становив 2,5–5,0 МОм. Зовнішній розчин містив (у ммоль/л): 140 NaCl; 5,9 KCl; 2,5 CaCl<sub>2</sub>; 1,2 MgCl<sub>2</sub>; 10 HEPES; 11,5 D-глюкоза (рН 7,4).

*Блокування експресії генів ПКС-α та -δ за допомогою РНКі.* міРНК для цільового сайленсингу генів ПКС-α та -δ (PRKCD-S-5' - GGA AAG GUA CUU UGC AAU CUU - 3'; PRKCD-A-5' - AGA UCU UUU GUU UCU GAG UUU - 3') були синтезовані на замовлення фірмою Метабіон (Німеччина). Дволанцюгові міРНК отримували перед дослідом за допомогою анелінгу. Для цього розчини відповідних сенсових та антисенсових нуклеотидів розводили в два рази буфером для анелінгу наступного складу (мМ): 30 HEPES-KOH; 100 KCl; 2 MgCl<sub>2</sub>; 50 NH<sub>4</sub>Ac; рН 7.4. Надалі вносили рівні об'єми розчинів нуклеотидів до пробірки та додавали вдвічі менший об'єм буфера. Використовуючи термоциклер «GeneAmp System 2700», отриману суміш інкубували за температури 90 °С протягом 1 хв, після чого протягом 45 хв охолоджували до кімнатної температури. міРНК вводили в хвостову вену в кількості 40 мкг/щура дворазово з 24-год інтервалом.

*Виділення загальної РНК.* Загальну РНК виділяли з грудної аорти щура із використанням набору Trizol RNA-prep (Isogen, Росія) відповідно до протоколу виробника. Концентрацію РНК визначали за допомогою спектрофотометра ND 1000 (NanoDrop Technologies Inc., США). Комплементарна ДНК була синтезована із використанням набору RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific, США) та праймера Random hexamer на однаковій кількості тотальної РНК (200–300 нг). Одноланцюгову ДНК використовували для проведення полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (РЧ-ПЛР).

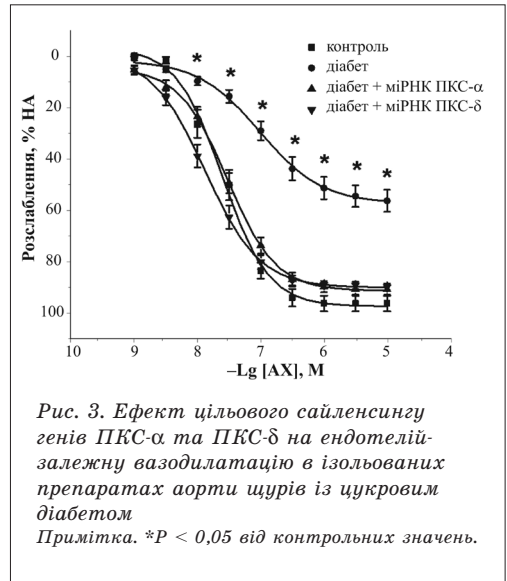
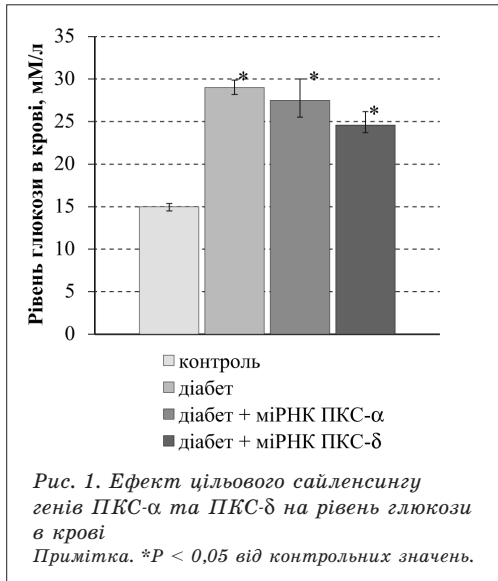
*ПЛР у реальному часі.* РЧ-ПЛР проводили в термоциклері 7500 Fast Real-Time PCR System у 10 мкл реакційної суміші SYBR Green PCR Master Mix, що містила по 30 пмоль праймерів для відповідних генів: ПКС-δ прямий 5' - CTG GAA TAG TGA GCT CCC AGA C - 3'

та зворотний 5' - ATC ACC AGT CAC CCA CTC TTC T - 3'; ПКС-α прямий 5' - STA GCC CCA CAT CCA CTT AGA G - 3' та зворотний 5' - GTG TCT TGA TCC TAC AGC TCC A - 3'. Як зовнішній контроль використовували фрагмент гена β-актину з відповідними праймерами: прямий 5' - TGT TAC GTC GCC TTG GAT TTT GAG - 3' та зворотний 5' - AAG AGA GAG ACA TAT CAG AAG C - 3'. Праймери були синтезовані на замовлення фірмою Metabion (Німеччина). Об'єм зразка доводили до 20 мкл деіонізованою водою.

*Статистична обробка результатів.* Аналіз результатів РЧ-ПЛР дослідів був проведений за допомогою програмного забезпечення 7500 Fast System SDS. Результати дослідів «whole-cell perforated patch» аналізували за допомогою програмного забезпечення рCLAMP версія 6.02 (Axon Instruments Inc., США). Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (One-Way ANOVA) та t-критерію Стьюдента, дані вважали статистично достовірними при  $P < 0,05$ . Усі дані наведено у вигляді середнього арифметичного (M) та стандартної похибки середнього арифметичного (m) для певної вибірки (n). Величини середньої ефективної концентрації АХ були виражені як від'ємний логарифм концентрації (EC<sub>50</sub>). Усі розрахунки проводили з використанням комп'ютерних програм EXEL 5.0 та OriginPro 7.5 (Microcal Software Inc.).

*Результати та їх обговорення.* У день дослідів рівень глюкози в крові діабетичних тварин становив  $29,9 \pm 0,6$  мМ/л (n = 12;  $P < 0,05$ ) і був достовірно вищим, ніж у контрольній групі ( $7,3 \pm 0,3$  мМ/л, n = 12). Уведення міРНК, специфічних до α та δ ізоформ ПКС, не знижувало рівень глюкози в крові, який становив  $28,9 \pm 2$  мМ/л (n = 15;  $P < 0,05$ ) та  $27,5 \pm 1,5$  мМ/л (n = 17;  $P < 0,05$ ) відповідно порівняно з діабетичними тваринами (рис. 1).

На першому етапі дослідження було проаналізовано відносні рівні експресії α та δ ізоформ ПКС в аорті дослідних тварин. Судинні тканини діабетичних тварин за результатами РЧ-ПЛР аналі-



зу демонстрували достовірне зростання рівня мРНК ПКС-α, у той час як рівень мРНК ПКС-δ не мав значущих відмінностей від показників групи здорових щурів. Уведення міРНК, специфічних до ПКС-α або до ПКС-δ, призвело до значного зниження мРНК зазначених ізоформ ПКС в аортах діабетичних тварин (рис. 2).

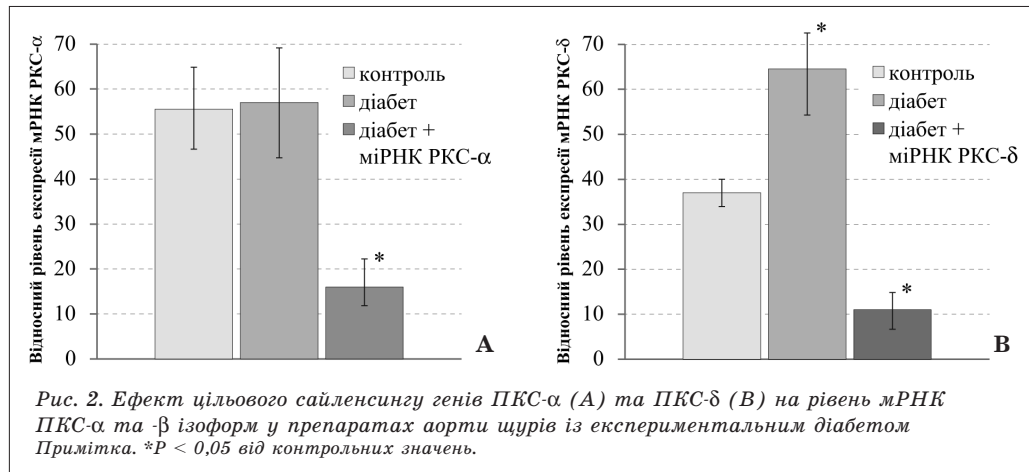
Отже, введення міРНК, специфічних до -α та -δ ізоформ ПКС, є ефективним методом посттранскрипційного сайленсингу генів.

Відомо, що міРНК, потрапляючи в судинне русло, швидко деградують під впливом нуклеаз, тому актуальним є питання захисту міРНК від нуклеазної активності та їхньої цільової доставки. Проте деякі дослідження свідчать, що міРНК без структурних модифікацій та

носіїв також можуть бути ефективними для сайленсингу генів [17, 23].

Чимало робіт вказують на зростання експресії та/або активації ПКС-α та -δ [7], у той самий час деякі дослідження вказують на відсутність змін експресії цих ізоформ на ранніх стадіях діабету [18].

З іншого боку, результати досліджень ендотелій-залежної вазодилатації вказують на відновлення функціонального стану ендотелію аорти за цільового сайленсингу як δ, так і α ізоформ ПКС. Так, порівняно з реакціями судинних сегментів здорових тварин ( $96,5 \pm 3,05$ ,  $n = 12$ ,  $EC_{50} 7,59 \pm 0,08$ ) вазодилатація в діабетичних тварин була пригніченою із максимальною амплітудою  $56,7 \pm 4,26\%$  ( $n = 12$ ,  $P < 0,05$ ,  $EC_{50} = 6,93 \pm 0,11$ ,  $P < 0,05$ ). На



сьому добу амплітуда вазодилатації після нокадауну гена ПКС- $\alpha$  становила  $91,00 \pm 2,11\%$  ( $n = 17$ ,  $P > 0,05$ ,  $EC_{50} = 7,58 \pm 0,07$ ,  $P < 0,05$ ), після нокадауну гена ПКС- $\delta$   $90,10 \pm 1,34\%$  ( $n = 15$ ,  $P > 0,05$ ,  $EC_{50} = 7,9 \pm 0,1$ ,  $P > 0,05$ ), тобто не відрізнялася від контрольних значень (рис. 3).

Отримані результати свідчать про залучення як  $\delta$ , так і  $\alpha$  ізоформ ПКС до розвитку ендотеліальної дисфункції за цукрового діабету. Відсутність кореляції між рівнем мРНК ПКС- $\alpha$  та активністю ферменту вказує на складну регуляцію експресії ізоформ ПКС як на транскрипційному, так і на трансляційному/посттрансляційному рівнях [19].

Для визначення залучення ПКС до  $K^+$ -каналопатії було використано неспецифічний до ізоформ інгібітор ПКС-челеритрин [20]. Внесення челеритрину в концентрації  $10^{-5}$  М до камери з ізольованими ГМК діабетичних тварин призвело до зростання густини сумарного вихідного  $K^+$ -струму з  $15,9 \pm 0,9$  пА/пФ ( $n = 13$ ) до  $24,2 \pm 4,5$  пА/пФ ( $n = 8$ ,  $P < 0,05$ ) (рис. 4).

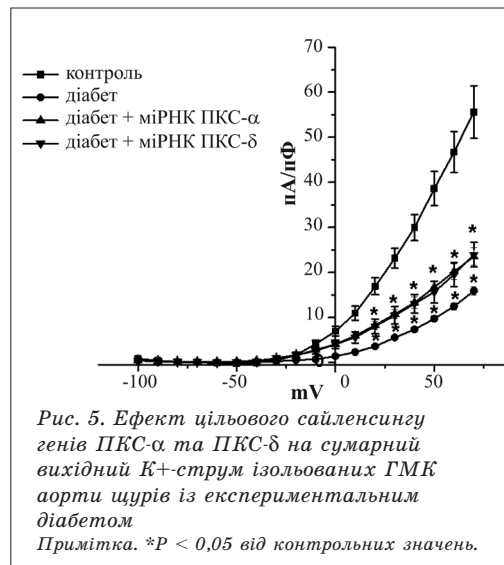
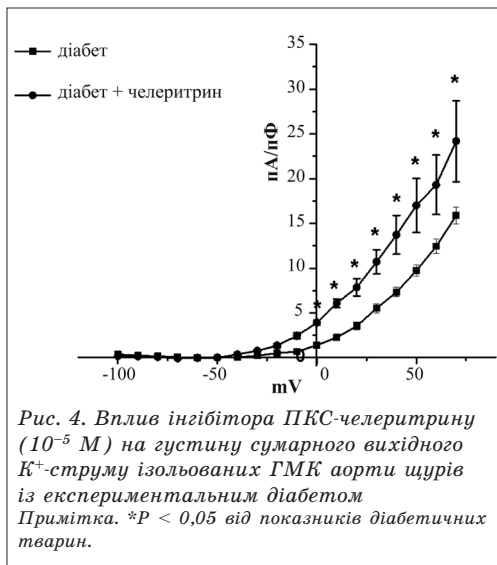
Таким чином, можна стверджувати, що порушення функціонування  $K^+$ -каналів за умов цукрового діабету є ПКС-залежними. Це підтверджує дані літератури щодо залучення ПКС до регуляції іонних каналів плазматичної мембрани ГМК, як  $Ca^{2+}$ -каналів L-типу, так і чисельних  $K^+$ -каналів, серед яких

$VK_{Ca}$ ,  $K_v$ ,  $K_{ATP}$  та ін. [21]. Проте специфічність ізоформ ПКС у регуляції  $K^+$ -каналів все ще має багато невизначенностей.

Порівняно з показниками здорових тварин ( $55,6 \pm 5,8$  пА/пФ,  $n = 8$ ) густина сумарного вихідного  $K^+$ -струму у ізольованих ГМК діабетичних тварин була значно нижчою та становила  $15,9 \pm 0,9$  пА/пФ ( $n = 13$ ,  $P < 0,05$ ). Сайленсинг генів PRKCA та PRKCD за допомогою РНК-інтерференції призвів до зростання сумарного вихідного  $K^+$ -струму до  $23,5 \pm 1,9$  пА/пФ ( $n = 12$ ,  $P < 0,05$ ) та  $23,9 \pm 2,7$  пА/пФ ( $n = 7$ ,  $P < 0,05$ ) відповідно порівняно з діабетичними тваринами (рис. 5).

Результати електрофізіологічних досліджень свідчать про залучення як  $\delta$ , так і  $\alpha$  ізоформ ПКС до порушення функціонування  $K^+$ -каналів плазматичної мембрани ГМК за умов діабету.

Таким чином, ПКС має значний потенціал як мішень для фармакологічної корекції судинних дисфункцій цукрового діабету. Реалізація РНКі-індукованого генного сайленсингу базується на селективній деградації мРНК-мішені комплементарними міРНК, у результаті чого не відбувається синтез білка [15]. Тому РНКі має численні переваги, такі як широка область застосування, висока специфічність та зниження побічних ефектів [16] порівняно з традиційною терапією та існуючими інгібіторами ПКС [22].





## Висновки

Підсумовуючи результати наших досліджень, можна стверджувати, що:

- розвиток ендотеліальної дисфункції та  $K^+$ -каналопатії за експериментального діабету є ПКС- $\alpha$  та  $\delta$  залежним;
- застосування міРНК, специфічних до мРНК  $\alpha$  та  $\delta$  ізоформ ПКС, призводить до значного зниження експресії зазначених ізоформ;
- внутрішньовенне введення міРНК, специфічних до  $\alpha$  та  $\delta$  ізоформ

ПКС, призводить до відновлення ендотелій-залежної вазодилатації аорти та зростання сумарного вихідного  $K^+$ -струму ізольованих ГМК діабетичних тварин, не впливаючи на рівень глюкози в крові.

Таким чином, технологія РНКі, застосована для посттранскрипційного сайленсингу генів  $\alpha$  та  $\delta$ -ізоформ ПКС, є ефективною для корекції ангіопатій, асоційованих із цукровим діабетом.

1. Winer N. Epidemiology of diabetes / N. Winer, J. R. Sowers // J. Clin. Pharmacol.– 2004 – V. 44 – P. 397–405.
2. Endothelial dysfunction in diabetes / A. S. De Vriese, T. J. Verbeuren, J. V. Voorde [et al.] // British Journal of Pharmacology – 2000 – V. 130 – P. 963–974.
3. Sandhiya S. Potassium channels in health, disease & development of channel modulators / S. Sandhiya, S. A. Dkhar // Indian J. Med. Res.– 2009 – V. 129 – P. 223–232.
4. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications / M. Brownlee // Nature – 2001.– V. 414 – P. 813–820.
5. Beckman J. A. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management / J. A. Beckman, M. A. Creager, P. Libby // JAMA.– 2002.– V. 287 – P. 2570–2581.
6. Clinical factors associated with resistance to microvascular complications in diabetic patients of extreme disease duration: the 50-year medalist study / H. Keenan, T. Costacou, J. Sun [et al.] // Diabetes Care.– 2007.– V. 30 – P. 1995–1997.
7. Geraldles P. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications / P. Geraldles, G. L. King // Circ. Res.– 2010 – V. 106 – P. 1319–1331.
8. Identification of protein kinase C isoforms in rat mesenteric small arteries and their possible role in agonist-induced contraction / V. Ohanian, J. Ohanian, L. Shaw [et al.] // Circ. Res.– 1996.– V. 78 – P. 806–812.
9. Koya D. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications / D. Koya, G. L. King // Diabetes.– 1998.– V. 47 – P. 859–866.
10. Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells / K. V. Ramana, B. Friedrich, R. Tammali [et al.] // Diabetes.– 2005.– V. 54 – P. 818–829.
11. High glucose concentrations increase endothelial cell permeability via activation of protein kinase C alpha / A. Hempel, C. Maasch, U. Heintze [et al.] // Circ. Res.– 1997.– V. 81 – P. 363–371.
12. Mitogenic signaling and the p16INK4a-Rb pathway cooperate to enforce irreversible cellular senescence / A. Takahashi, N. Ohtani, K. Yamakoshi [et al.] // Nat. Cell. Biol.– 2006.– V. 8.– P. 1291–1297.
13. Reddy L. S. RNAi in medicine: current and future perspectives / L. S. Reddy, V. Sarojamma, V. Ramakrishna // Biotechnol. Mol. Biol. Rev.– 2006.– V. 1, № 4.– P. 103–114.
14. Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems / N. J. Caplen, S. Parrish, F. Imani [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 2001.– V. 98.– P. 9742–9747.
15. Czech M. P. RNAi-based therapeutic strategies for metabolic disease / M. P. Czech, M. Aouadi, G. J. Tesz // Nat. Rev. Endocrinol.– 2011.– V. 7 – P. 473–484.
16. Rondinone C. M. Therapeutic potential of iRNA in metabolic diseases / C. M. Rondinone // BioTechniques.– 2006.– V. 40 – P. S31–S36.
17. An efficient intrathecal delivery of small interfering RNA to the spinal cord and peripheral neurons / M. C. Luo, D. Q. Zhang, S. W. Ma [et al.] // Mol. Pain.– 2005.– V. 1.– P. 29.
18. Differential expression of protein kinase C isoforms in coronary arteries of diabetic mice lacking the G-protein G611 / D. P. Hoyer1, Y. Korkmaz, S. Grunke1 [et al.] // Cardiovasc. Diabetol.– 2010.– V. 9.– P. 93.
19. Protein kinase C isozymes and the regulation of diverse cell responses / E. C. Dempsey, A. C. Newton, D. Mochley-Rosen, [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.– 2000.– V. 279.– P. L429–438.
20. Chelerythrine is a potent and specific inhibitor of protein kinase C / J. M. Herbert, J. M. Augereau, J. Gleye [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun.– 1990.– V. 172.– P. 993–999.
21. Crozatier B. Central role of PKCs in vascular smooth muscle cell ion channel regulation / B. Crozatier // J. Mol. Cell. Cardiol.– 2006.– V. 41, № 6.– P. 952–955.

- 
22. Protein kinase C inhibitors: a patent review (2008–2009) / M. E. Sobhia, B. K. Grewal, S. Paul M. L. [et al.] // *Expert. Opin. Ther. Pat.* – 2013. – V. 23, № 10. – P. 1297–1315.
23. Корекція калієвої провідності в гладеньком'язових клітинах аорти щурів з генетично детермінованою гіпертензією шляхом пригнічення експресії гена  $\delta$ -ізоформи протеїнкінази C / Т. В. Новохацька, С. М. Тишкін, В. Є. Досенко, А. І. Соловйов // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2012. – № 5 (30). – С. 50–58.

**К. И. Клименко, Т. В. Новохацкая, И. В. Кизуб, В. Е. Досенко, А. И. Соловьев**  
**Влияние сайленсинга генов  $\alpha$  и  $\delta$  изоформ протеинкиназы C**  
**на ионную каналопатию и эндотелиальную дисфункцию**  
**аорты крыс с сахарным диабетом**

Целью исследования стало изучения влияния сайленсинга генов  $\alpha$  и  $\delta$  изоформ протеинкиназы C (ПКС), используя малые интерферирующие РНК (миРНК), на эндотелиальную дисфункцию аорты и калиевую каналопатию в гладкомышечных клетках (ГМК) диабетических крыс. Исследование было проведено с применением следующих методик: индукции диабета (стрептозотоцин, 65 мг/кг), выделения ГМК аорты и тотальной мРНК, методики patch-clamp, РНК-интерференции и полимеразной цепной реакции в реальном времени (РВ-ПЦР). миРНК (40 мкг/крысу) вводили в хвостовую вену дважды с интервалом в 1 день. Результаты РВ-ПЦР продемонстрировали увеличение относительного уровня мРНК ПКС- $\delta$  у диабетических крыс, в то время как показатели относительного уровня мРНК ПКС- $\alpha$  не отличались от показателей здоровых крыс. На 7-й день после введения миРНК было продемонстрировано снижение уровня мРНК  $\alpha$  и  $\delta$  изоформ ПКС. Увеличение плотности суммарного выходящего  $K^+$ -тока, а также восстановление угнетенной эндотелий-зависимой вазодилатации наблюдалось после сайленсинга гена как  $\alpha$ , так и  $\delta$  изоформы ПКС. При этом повышенный уровень глюкозы в крови диабетических крыс не снижался. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении в развитие эндотелиальной дисфункции и калиевой каналопатии как  $\alpha$ , так и  $\delta$  изоформ ПКС. Сайленсинг генов данных изоформ с использованием миРНК способствует увеличению суммарного выходящего  $K^+$ -тока в изолированных ГМК, а также восстановлению эндотелиальной функции у крыс с сахарным диабетом без изменения уровня глюкозы крови.

*Ключевые слова: сосудистые осложнения сахарного диабета, гладкомышечные клетки, калиевые каналы, протеинкиназа C, РНК-интерференция*

**К. I. Klymenko, T. V. Novokhatska, I. V. Kizub, V. Dosenko, A. I. Soloviev**  
**The effect of PKC- $\alpha$  and - $\delta$  isozyme gene silencing on potassium channelopathy**  
**and endothelium dysfunction in diabetic rat aorta**

It is known that endothelium and  $K^+$  channels functionality in smooth muscle cells (SMCs) regulate vascular function and are exposed to damage in diabetes. The aim of this study was to evaluate the effect of PKC- $\alpha$  and - $\delta$  gene silencing using small interfering RNAs (siRNAs) on endothelial dysfunction and potassium channelopathy in vascular smooth muscle cells (SMCs) obtained from diabetic rats. Experimental design of the study comprised diabetes induction by streptozotocin (STZ, 65 mg/kg), total mRNA isolation, RNA interference (RNAi), isolation of rat thoracic aorta SMCs, isolated aortic rings contractile recordings, whole-cell patch-clamp technique and RT-PCR technique. Diabetic rats were treated with siRNAs (40 mkg/ per rat) twice via tail vein with 24 hours interval and were taken to the experiment on 7th day. RT-PCR results showed increasing of PKC- $\delta$  relative mRNA level in diabetic rats while PKC- $\alpha$  relative mRNA level was without changes. Posttranscriptional gene silencing using siRNAs on 7th day after injection demonstrated significant decreasing of both  $\alpha$  and  $\delta$  PKC isoforms mRNA relative levels; significant increasing of depressed total outward  $K^+$ -current in isolated vascular SMC and endothelium-dependent vasodilatation. RNAi had no effect on high blood glucose level in diabetic rats. In conclusion, the silencing of PKC- $\alpha$  and - $\delta$  genes expression using siRNAs possess the ability to restore decreased endothelium-dependent relaxation and total outward potassium currents in SMCs from diabetic rats without altering blood glucose level. The data obtained suggest that siRNAs technique can be a good therapeutic tool to normalize vascular functionality.

*Key words: diabetic vascular complications, smooth muscle cells, potassium channels, protein kinase C, RNA interference*

Надійшла: 17.10.2013 р.

**Контактна особа:** Клименко Катерина Ігорівна, аспірант, відділ експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680.  
Тел.: +38 0 44 456 02 88.

О. М. Колос<sup>1</sup>, Г. В. Зайченко<sup>1</sup>, О. В. Рубашкіна<sup>2</sup>,  
О. А. Зайченко<sup>3</sup>, Т. О. Брюханова<sup>1</sup>

## Клінічні, біохімічні та імунологічні маркери гіперчутливості в мурчаків під впливом циклорину

<sup>1</sup>Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації  
Національного фармацевтичного університету, м. Харків

<sup>2</sup>КЗОЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня № 1», м. Харків

<sup>3</sup>КЗОЗ «Обласна клінічна лікарня – Центр екстреної медичної допомоги  
та медицини катастроф», м. Харків

*Ключові слова: анафілаксія,  
бронхообструктивний синдром,  
маркери гіперчутливості, циклорин*

Серед найважливіших проблем сучасної системи охорони здоров'я одне з перших місць посідає захворюваність на бронхіальну астму (БА). Бронхіальна астма (БА) – захворювання дихальних шляхів, в основі якого лежить хронічне запалення дихальних шляхів і гіперреактивність бронхів. Відповідно до даних літератури розповсюдженість БА у різних країнах світу становить від 1 до 10% населення. Не менше 5–7% жителів Землі страждають на це захворювання. Щороку БА стає причиною смерті не менше ніж 2 млн людей у світі. Одним із факторів високої захворюваності та розвитку ускладнень є нераціональне використання лікарських засобів для фармакологічної корекції БА або їхня недостатня ефективність [5].

Основною метою лікування хворих на БА є досягнення контролю над хворобою. Незважаючи на розробку та впровадження нових лікарських засобів для лікування БА, контроль над симптомами захворювання не досягається більш ніж у 70% пацієнтів. Відповідно до даних Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ) тільки в 5% пацієнтів вдається досягти такого рівня контролю астми, який визначений GINA (Global database on the Implementation of Nutrition Action) [2]. Одним із головних напрямів лікування пацієнтів з БА є попередження загострення хвороби й подовження періодів ремісії. Алопатичні лікарські засоби, які

використовуються в фармакотерапії БА (глюкокортикостероїди,  $\beta_2$ -адреноміметики, М-холіноблокатори та ін.), забезпечують ефективний контроль захворювання в період загострення, проте значна кількість побічних ефектів обмежує їхнє тривале використання в період ремісії. Одним із перспективних напрямів фармакотерапії в після- та міжприступний період є застосування фіто- та гомеопатичних препаратів (ГП) для попередження загострень захворювання. Гомеопатичні препарати використовуються в терапії БА протягом тривалого часу та демонструють високу ефективність, практично повну відсутність побічних ефектів у пацієнтів. Цикламен європейський є дослідженою та добре відомою рослиною, що здавна використовується в фітотерапії та гомеопатії для лікування запальних захворювань у отоларингології [10]. Проте на фармацевтичному ринку України відсутні ГП вітчизняного виробництва на основі цикламену. Саме тому з метою поповнення асортименту гомеопатичних ліків та реалізації концепції імпортозаміщення у Національному фармацевтичному університеті під керівництвом професора О. І. Тихонова було розроблено гомеопатичні гранули на основі цикламену європейського – «Циклорин». Даний препарат виявив високу ефективність на моделі алергічного риніту в мурчаків, тому доцільним було дослідити ефективність його превентивної дії на моделі гіперчутливості негайного типу, що розвивається як анафілактична реакція та супроводжується розвитком бронхообструктивного синдрому.

*Мета дослідження* – фармакологічне обґрунтування ефективності лікувально-профілактичної дії гомеопатичних гранул «Циклорин» при бронхообструктивному синдромі в мурчаків.

**Матеріали та методи.** Для моделювання бронхообструктивного синдрому (БОС) використовували найчутливіших для імунологічних досліджень тварин – мурчаків. Усіх тварин було розподілено на чотири експериментальні групи:

- 1) інтактний контроль (ІК) – здорові тварини;
- 2) контрольна патологія (КП) – тварини, у яких викликали БОС;
- 3) група тварин, які на фоні БОС отримували циклорин у дозі 37 мг/кг;
- 4) група тварин, які на фоні БОС отримували кетотифен у дозі 0,13 мг/кг.

Як препарат порівняння був обраний препарат кетотифен, який застосовується для профілактики та лікування алергічних захворювань (згідно з протоколами надання медичної допомоги хворим на БА, затверджених наказом Міністерства охорони здоров'я України від 28 грудня 2002 р. № 507).

Для моделювання бронхообструкції відтворювали алергічну реакцію негайного типу – анафілаксію. Тварин груп КП, циклорину та кетотифену сенситивізували 0,1 нормальною конячою сироваткою (НКС) за допомогою трьох ін'єкцій (по 0,2 мл НКС): перша ін'єкція підшкірно, друга і третя – внутрішньом'язово (ін'єкції проводяться на 1-й, 3-й та 5-й дні відповідно). На 21-й день тваринам усіх груп вводили розв'язувальну дозу антигена (РДА) – НКС, 1 мл внутрішньочеревинно. У тварин виникла анафілактична реакція з розвитком бронхоспазму. Тваринам третьої та четвертої груп, починаючи з першого дня сенситивізації до 21-го включно, вводили досліджуваній препарат циклорин або препарат порівняння – кетотифен, внутрішньошлунково в дозах 37 мг/кг та 0,13 мг/кг відповідно.

Виразність патологічної реакції оцінювали візуально за шкалою від 0 до 4 балів (за методом Ф. Ф. Лукманової та W. O. Weige та співавт.): 0 балів – ознаки реакції відсутні; 1 бал – реакція слабого ступеня: прискорене дихання,

деякий неспокій, короточасне почухування мордочки, мимовільне сечовиділення, дефекація; 2 бали – реакція помірного ступеня: невеликі судоми, виражене почухування мордочки, виражений прояв бронхоспазму; 3 бали – реакція тяжкого ступеня: судоми, асфіксія, спастичний кашель, чхання, хрипи при диханні, мимовільне сечовиділення і дефекація, тварина падає на бік, проте не гине; 4 бали – загибель тварини [4, 6]. Антиалергічну активність досліджуваних препаратів визначали за їхньою здатністю зменшувати виразність анафілактичної реакції та бронхообструкції. Критеріями оцінки ефективності дії досліджуваних препаратів були наступні показники: клінічні (здатність препаратів попереджати розвиток БОС), імунологічні (кількість лейкоцитів, рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), титр гетерофільних аглютининів, уміст інтерлейкіну-1 $\beta$  та гістаміну в сироватці крові), біометричні (визначення масових коефіцієнтів легенів, селезінки та тимуса) [1, 3, 7–9].

При застосуванні методів математичної статистики був прийнятий рівень значущості  $p < 0,05$ . Для проведення математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм Statistica 6.0.

**Результати та їх обговорення.** Стартовим етапом роботи стала оцінка клінічних проявів БОС після введення розв'язуючої дози антигена (РДА) (табл. 1).

У тварин групи КП введення РДА супроводжувалось розвитком реакції анафілаксії з проявами бронхоспазму, яка була в середньому оцінена в 3 бали, 2 тварини загинули. Профілактичне введення циклорину та кетотифену ефективно попереджало розвиток БОС на фоні анафілаксії, виразність реакції було оцінено в середньому в 1,6 і 1,25 бала відповідно, що достовірно відрізнялося від даних тварин групи КП.

Алергічна реакція супроводжувалась розвитком системної запальної реакції, що відбивалось збільшенням кількості лейкоцитів у крові тварин групи КП майже в 3 рази. Превентивне введення циклорину та кетотифену стримувало розвиток системної запальної

**Виразність алергічної реакції за моделювання анафілаксії в мурчаків і впливу циклорину та кетотифену, n = 6**

Показник, бали (UQ÷LQ)	Інтактний контроль	Контрольна патологія	БОС + циклорин	БОС+ кетотифен
Виразність алергічної реакції	–	3 (2÷4)	1,6 (0÷3)*	1,25 (0÷2)*

Примітка. n – кількість тварин у групі; \*відхилення достовірне відносно показника контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

реакції, що підтверджувалося показниками кількості лейкоцитів, які достовірно не відрізнялись від показника ІК (табл. 2). Сенсibilізація організму тварин супроводжувалась утворенням надмірної кількості антитіл, що виражалось у збільшенні титру гетерофільних аглютининів (ГА) у сироватці крові тварин групи КП. Профілактичне введення циклорину та кетотифену ефективно гальмувало процес антитілоутворення (показники достовірно відрізнялись від КП) (табл. 2). Уведення РДА супроводжувалося утворенням комплексів антиген-антитіло (збільшувався рівень ЦІК у тварин групи КП), що провокують дегрануляцію мастоцитів та опосередковують розвиток клінічної картини БОС. Циклорин ефективно попереджав утворення комплексів антиген-антитіло і відповідно – розвиток БОС (це підтверджувалося зниженням титру ЦІК, який достовірно не відрізнявся від показників тварин групи ІК). Крім того, за впливом на рівень ЦІК циклорин достовірно перевищував препарат порівняння кетотифен (табл. 2).

Оскільки в патогенезі БОС важливу роль відіграє підвищення активності

клітинної ланки імунної системи, зокрема вихід до кровоносного русла еозинофілів та міграція їх у зону алергійного запалення, наступним етапом роботи був аналіз лейкоцитарної формули, яку оцінювали до та після введення РДА. Лейкоцитарна формула після введення РДА відповідала клінічній картині алергічного запалення негайного типу. У тварин групи КП спостерігалася виразна еозинофілія, у той час, як профілактичне введення циклорину й кетотифену попереджало збільшення цього показника (табл. 3).

Один із початкових етапів у розвитку БОС – продукція макрофагами прозапального інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ). Це відбивалося достовірним підвищенням цього показника у тварин групи КП. Превентивне введення циклорину ефективно запобігало розвитку БОС у сенсibilізованих тварин, про що свідчило попередження підвищення показника ІЛ-1 $\beta$ , який достовірно не відрізнявся від ІК, проте достовірно переважав препарат порівняння (табл. 4). Введення РДА супроводжувалося розвитком вираженого БОС у тварин групи КП, що зумовлено зв'язуванням

Таблиця 2

**Імунологічні показники за умов моделювання анафілаксії в мурчаків і застосування циклорину та кетотифену, n = 6**

Показник	Інтактний контроль	Контрольна патологія	БОС + циклорин	БОС + кетотифен
Кількість лейкоцитів, 10 <sup>9</sup> /г·л	6,46 ± 0,92	17,17 ± 0,49*	6,75 ± 0,77**	8,81 ± 1,66**
Титри ГА, log <sub>2</sub>	0 (0÷0)	3,33 (3÷4)*	2,00 (1÷3) */**	2,25 (2÷3) */**
Рівень ЦІК, середнього розміру, ум.од	0,016 ± 0,005	0,025 ± 0,002*	0,014 ± 0,005**/**	0,041 ± 0,009*

Примітка. Тут і в табл. 4: n – кількість тварин у групі; \* відхилення достовірне відносно показника інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ ); \*\*відхилення достовірне відносно показника контрольної патології ( $p \leq 0,001$ ); \*\*\*відхилення достовірно відносно показника референтного препарату ( $p \leq 0,05$ ).



**Кількість еозинофілів у крові мурчаків за умов моделювання анафілаксії та застосування циклорину та кетотифену, n = 6**

Показник	Термін спостереження	Інтактний контроль	Контрольна патологія	БОС + циклорин	БОС+ кетотифен
Кількість еозинофілів	Вихідні дані	0,67 ± 0,49	1,20 ± 0,73	1,17 ± 0,47	0,75 ± 0,47
	Після моделювання анафілаксії	0,66 ± 0,21	1,40 ± 0,25*	0,73 ± 0,15**	0,67 ± 0,33**

Примітка.\*Відхилення достовірне відносно показника інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ );

\*\*відхилення достовірне відносно показника контрольної патології ( $p \leq 0,001$ ).

гістаміну з  $H_1$ -гістаміновими рецепторами (цим пояснюється більш низький показник умісту вільного гістаміну). Профілактичне введення циклорину та кетотифену попереджало розвиток БОС шляхом запобігання зв'язуванню гістаміну з його рецепторами (більш високі показники в групі тварин, які отримували циклорин порівняно з тваринами групи КП). Це дозволяє припустити антигістаміновий механізм дії циклорину (табл. 4). Сенсibiliзація організму та наступне введення розв'язуювальної дози антигена супроводжувалося змінами коефіцієнтів маси імункомпетентних (тимус та селезінка) та таргетного (легені) органів.

Спостерігалася інволюція тимуса та селезінки у тварин групи КП за рахунок виходу імункомпетентних клітин, у той час як профілактичне введення циклорину й кетотифену попереджало

розвиток патологічного процесу та компенсаторні зміни з боку головних імункомпетентних органів.

Основним «шоковим» органом при анафілаксії є бронхи та легені. Коефіцієнти маси легенів у тварин групи КП були достовірно вищими, ніж у трьох інших дослідних групах. Це може бути пояснено підвищеним кровонаповненням легенів, збільшенням тиску у венозних судинах і спазмом артеріальних судин, що створювало передумови для розвитку набряку легенів, наростання дихальної недостатності та загибелі тварин. Превентивне введення досліджуваних препаратів попереджало розвиток таких порушень, що підтверджувалося нормалізацією коефіцієнтів маси легенів, показник яких достовірно не відрізнявся від таких у інтактного контролю (табл. 5).

Таблиця 4

**Уміст гістаміну та інтерлейкіну-1 $\beta$  у сироватці крові мурчаків за моделювання анафілаксії та застосування циклорину та кетотифену, n = 6**

Показник	Інтактний контроль	Контрольна патологія	БОС + циклорин	БОС + кетотифен
Гістамін, мг/мл	148,46 ± 3,28	62,00 ± 3,00*	116,58 ± 3,60*/**/**	101,81 ± 2,35*/**
ІЛ-1 $\beta$ , пк/мл	280,00 ± 1,26	310,67 ± 11,19*	282,83 ± 4,47**	307,47 ± 3,56

Таблиця 5

**Коефіцієнти маси внутрішніх органів за моделювання анафілаксії в мурчаків і застосування циклорину та кетотифену, n = 6**

Внутрішні органи	Інтактний контроль	Контрольна патологія	БОС + циклорин	БОС + кетотифен
Легені	0,64 ± 0,04	0,83 ± 0,01*	0,77 ± 0,81**	0,72 ± 0,03**
Селезінка	0,22 ± 0,02	0,14 ± 0,01*	0,22 ± 0,02**	0,24 ± 0,02**
Тимус	0,090 ± 0,006	0,040 ± 0,004*	0,060 ± 0,001*/**	0,060 ± 0,003*/**

Примітка. n – кількість тварин у групі; \*відхилення достовірне відносно показника інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ ); \*\*відхилення достовірне відносно показника контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ); \*\*\*відхилення достовірне відносно показника контрольної референтного препарату ( $p \leq 0,05$ ).

## Висновок

Досліджуваний препарат – гомеопатичні гранули Циклорин при 21-денному профілактичному введенні в дозі 37 мг/кг ефективно попереджає розвиток БОС у сенсibilізованих тварин після введення РДА. За результатами клінічних, лабораторних, біометричних показників циклорин не поступається препарату порівняння кетотифену у дозі 0,13 мг/кг, а за впливом на окремі показники (ІЛ-1 $\beta$ , гістамін, рівень ЦІК) перевищує його.

Отримані результати свідчать про ефективність гомеопатичних гранул

Циклорин, зумовлену наявністю антигістамінового та гіпосенсибілізуючого компонентів протиалергічної дії. Отримані дані розширюють уявлення про можливі механізми фармакологічної дії гомеопатичних лікарських засобів, зокрема таких, що містять БАР цикламену європейського. Результати проведених експериментальних досліджень є підґрунтям подальших клінічних випробувань екстракту цикламену та створення на його основі нового ефективного та безпечного гомеопатичного препарату.

1. Chuch K. Martin. H<sub>1</sub>-antihistamines and inflammation / Chuch K. // Clin. Exp. Allergy.– 2001.– V. 3.– P. 1341–1343.
2. <http://www.who.int/ru/>
3. Moncada S. Prostaglandins, prostacyclin, thromboxane A2 and leukotrienes. In: Gilman A.G., Goodman L.S. et.al / S. Moncada, R.J. Flower & J.R. Vane // The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th ed.pp.– MacMillan Publishing Co., New York, 1985.– P. 660–673.
4. Weiss K. B. An economic evaluation of asthma in the United States / K. B. Weiss, P. J. Gergen, T. A. Hodson // N Engl J. Med.– 1992.– V. 326.– P. 862–866.
5. Бронхиальная астма. Современный взгляд на лечение и профилактику: В. Н. Стручкова.– Санкт-Петербург, ИГ «Весь», 2008.– 160 с.
6. Доклінічне вивчення сенсibilізуючої дії лікарських засобів. Методичні рекомендації: За ред. О. В. Стефанова.– К., 2002.– С. 5–27.
7. Йегер Л. Клиническая иммунология. Аллергология. Т. 2 / Л. Йегер.– М., 1990.– 237 с.
8. Руководство по иммунофармакологии / Под ред. М. М. Дейла, Д. К. Формена.– М.: Медицина, 1998.– 332 с.
9. Климкина Н. В. Колориметрический метод определения гистамина в крови и органах лабораторных животных / Н. В. Климкина, С. И. Плитман // Биохимические методы исследования в гигиене.– М.: Медицина, 1973.– С. 87–91.
10. Пфаар О. Назальный спрей на основе цикламена европейского: инновационный фитотерапевтический продукт для лечения острого риносинусита. Рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование / О. Пфаар // Ринология.– 2012.– № 50 (1).– С. 37–44.

### **А. Н. Колос, А. В. Зайченко, Е. В. Рубашкина, Е. А. Зайченко, Т. А. Брюханова** **Клинические, биохимические и иммунологические маркеры** **гиперчувствительности у морских свинок под влиянием циклорина**

В статье представлены результаты изучения фармакологической активности нового гомеопатического препарата «Циклорин», содержащего экстракт цикламена европейского, на модели реакции гиперчувствительности немедленного типа с бронхообструктивным синдромом у морских свинок. Установлено, что исследуемый препарат «Циклорин» эффективно предупреждает развитие бронхообструктивного синдрома у сенсibilізованных животных. Циклорин при 21-дневном внутривнутреннем введении в дозе 37 мг/кг оказывает положительное влияние на биохимические, иммунологические и биометрические показатели, не уступая препарату сравнения кетотифену в дозе 0,13 мг/кг. По влиянию на отдельные показатели (интерлейкин-1 $\beta$ , содержание гистамина, уровень циркулирующих иммунных комплексов) циклорин превосходит препарат сравнения.

*Ключевые слова: анафилаксия, бронхообструктивный синдром, маркеры гиперчувствительности, циклорин*

### **О. М. Колос, Г. В. Зайченко, О. В. Рубашкина, О. А. Зайченко, Т. О. Брюханова** **Clinical, biochemical and immunological markers' of hypersensibility of guinea** **pigs in response to cyclorine**

The search for new medicinal products for pharmacological correction of allergic diseases, including bronchial asthma, is an actual problem of contemporary pharmacology. The prospective branch of pharmacotherapy for broncho-obstructive syndrome – is the application of homeopathic medicinal products. With the purpose of creation a new domestic homeopathic medicinal product for curing allergic diseases, «Cyclorine» medicinal product has been developed in the national university of pharmacy on the

---

---

basis of extract of *Cyclamen europaeum*, which is widely used in homeopathic medicine for curing sinusitis, headache and bronchial asthma. The authors of the article describe results of experimental study of pharmacological activity of «Cyclorine» homeopathic medicinal product at the model of hypersensitive reaction at broncho-obstructive syndrome of guinea pigs. The animals have been divided into four experimental groups: intact control; control pathology; Cyclorine + broncho-obstructive syndrome; Ketotifen + broncho-obstructive syndrome. Within 21 days, all the animals, but for the group of intact control, are being sensitized with normal horse serum, with further introduction of a solving dose of antigen. Cyclorine and Ketotifen are given intragastrically at the dose of 37 mg/kg and 0.13 mg/kg correspondingly, during 21 days, starting with the first day of sensibilization. It was determined that the studied product was effective for prevention of broncho-obstructive syndrome development at sensitized animals. 21-days introduction of Cyclorine at the dose of 37 mg/kg had positive impact on the dynamics of biochemical, immunological and biometrical indices. As of impact on leucocytes and eosinophils, titer of heterophil agglutinins, mass coefficients of internals (lungs, thymus, and lien) Cyclorine was as good as comparative substance Ketotifen. As of impact on certain indices (interleukin-1 $\beta$ , histamine, level of circulating immune complexes), Cyclorine was better than the comparative substance. Effectiveness of the product was due to stabilization of membranes of mast cells and impact on histamine release.

*Key words: anaphylaxis, broncho-obstructive syndrome, hypersensitivity markers, cyclorine*

---

Надійшла: 01.11.2013 р.

**Контактна особа:** Зайченко Ганна Володимирівна, доктор медичних наук, кафедра клінічної фармакології ІПКСФ, Національний фармацевтичний університет, буд. 3, вул. Челюскінців, м. Харків, 61013. Тел.: +38 0 57 704 15 54.

## Дослідження фармакометричних показників режиму дозування антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3

<sup>1</sup>ДЗ «Луганський державний медичний університет»

<sup>2</sup>ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

*Ключові слова:* фармакометричні показники, антигіпоксанти ВІТАГЕРМ-3, режим дозування

Розробка режиму дозування потенційного лікарського засобу на стадії його доклінічного дослідження є ключовим, трудомістким та відповідальним етапом роботи, який гарантує проведення науково-обгрунтованої ефективної та безпечної фармакотерапії. На сучасному етапі розвитку фармакологічної науки для рішення даної проблеми найраціональнішим вважають використання математичного моделювання залежності виживання тварин від часу введення та дози потенційного лікарського засобу [1–4]. Це, насамперед, дозволяє на основі аналізу математичної моделі суттєво скоротити час дослідження. Статистичний аналіз кривої «доза–ефект» зазвичай виконують методами математичної статистики, такими як пробіт-аналіз, логіт-аналіз, метод Спірмена-Кербера [5]. Як правило, віддають перевагу моделям, у яких використовують нелінійну апроксимацію порівняно з лінійними або лінеаризованими, навіть якщо емпірична залежність виглядає лінійною в досліджуваному інтервалі доз. Таке дослідження виконують, виходячи з того, що в переважній більшості випадків залежності «доза–ефект» механізми розвитку ефекту є нелінійними, але розподіл експериментальних даних може виглядати лінійним при деяких специфічних обставинах та/або в деяких інтервалах доз [5].

Відомо, що п'ятикоординовані органічні сполуки германію характеризуються широким спектром біологічної дії. Здатність сполук германію переносити кисень на тканинному рівні особ-

ливо важлива для попередження гіпоксії [6]. Передбачають, що в крові органічний германій проявляє дію аналогічно гемоглобіну, якому також притаманний негативний заряд, та як і гемоглобін бере участь у процесі переносу кисню в тканинах організму.

Попередньо проведений нами скринінговий аналіз синтезованих координаційних сполук германію на моделі гіпоксії замкнутого простору дозволив виділити оригінальну сполуку ВІТАГЕРМ-3.

Для розробки оптимального режиму дозування ВІТАГЕРМ-3 вважали доцільним використовувати методичний підхід, в основі якого лежить знаходження математичної моделі залежності «доза–ефект», яка базується на припущенні, що існує деяка границя  $X$  (доза препарату), перевищення якої реалізується позитивним ефектом тест-об'єкта. У випадках, коли доза препарату, що вводиться, нижча границі  $X$ , то ефект відсутній, а у випадку, якщо випробовувана доза більша за гіпотетичну ( $X$ ), то спостерігається позитивний ефект. Таким чином, розглядається випадок, коли величина дози є невідомою функцією розподілу та густиною розподілу, а величина ефективності може бути як випадковою, так і не випадковою.

*Мета дослідження* – побудова математичної моделі фармакотерапевтичного ефекту та розрахунків на її основі величин середньої ефективної дози ( $D_{50}$ ) та оптимального часу введення потенційного лікарського засобу ВІТАГЕРМ-3.

*Матеріали та методи.* Експериментальною моделлю даної форми гіпоксичного синдрому був патологічний процес, який розвивається у тварин у замкнутому просторі за зростаючого

вмісту двоокису вуглецю та зниження вмісту кисню повітря, що вдихається. Тварин поміщали в герметично закриті скляні ємності об'ємом 1000 мл, які перевертали дном доверху та опускали в піднос з водою для запобігання попадання повітря до гермооб'єма. У запропонованій моделі розглядали фіксований план експерименту, який передбачав, що дози є наперед відомі, тобто не є випадковими. Вибір доз здійснювали із розрахунку рекомендованих добових доз германію в органічній формі (8–10 мг) [7]. Використання методу сплайн-інтерполяції дозволяє проводити аналіз довільної дозозалежної кривої за будь-якого інтервалу між дозами. Вибір числа експериментальних точок, необхідних для визначення параметрів дозозалежної кривої, залежить від вимог до точності цих параметрів, від похибки вимірювання та від ступеня складності кривої «доза–ефект». Довірчим інтервалом для  $D_{50}$  слугує інтервал  $D_{16} - D_{84}$  [8]. Сполуку вводили внутрішньочеревинно білим безпородним щурам обох статей у дозах 25, 100, 200 мг/кг ( $n = 8$ ,  $p \leq 0,05$ ). У вибраному діапазоні доз задавали похибку вимірювання ефекту за формулою [8]:

$$Y (\%) = \bar{Y} \pm \zeta Y_c / 100,$$

де  $\bar{Y}$  – «вимірюване» з похибкою значення ефекту,  $\zeta$  – рівномірно розподілена випадкова величина на відрізку  $D_0 - D_1$ ,  $c$  – похибка вимірювання, %.

Як критерій ефективності використовували час життя тварин у гермооб'ємі.

**Результати та їх обговорення.** У таблиці 1 наведено експериментальні дані впливу на подовження часу життя тварин різних доз ВІТАГЕРМ-3, уведених тваринам за 60 хв до поміщення їх у гермооб'єм.

Побудова математичної моделі на основі досліджених доз передбачає порівняння лінійної та поліноміальної залежностей (рис. 1). Апроксимація поліноміальної функції має переваги порівняно з лінійною функцією ( $R^2 = 0,9955$  та  $0,59$  відповідно) (рис. 1. Б). У результаті отримано залежність:

$$T(d) = 0,0006d^2 + 0,1536d - 0,2572 \quad (R^2 = 0,9955). \quad (1)$$

Аналіз отриманої функції показує, що її максимум досягається при величині дози ВІТАГЕРМ-3 135 мг/кг, що відповідає ефекту 10 хв. Визначена графічно (рис. 1. С) та за функцією (1) доза  $D_{50}$  становить 40 мг/кг та 36,67 мг/кг (ефект 5 хв). Розбіжність величин  $D_{50}$  між графічним та розрахунковим методом складає до 10%.

Наступний етап фармакометричного дослідження присвячений визначенню оптимального часу введення ВІТАГЕРМ-3 в дозі  $D_{50}$ . З цієї метою ВІТАГЕРМ-3 вводили за 2 год, 1 год та безпосередньо перед поміщенням тварин у гермооб'єм. Отримані результати залежності ефекту від тривалості дії ВІТАГЕРМ-3 до поміщення тварин у гермооб'єм наведено в таблиці 2.

Як показано на рисунку 2, отримані дані були екстрапольовані на поліном другого порядку:  $y = -0,0011x^2 + 0,075x + 4,5$ ,

Таблиця 1

*Час життя тварин у гермооб'ємі за умов введення різних доз ВІТАГЕРМ-3,  $M \pm m$*

Експериментальна група	Доза ВІТАГЕРМ-3, мг/кг	Час життя тварин у гермооб'ємі, хв (Т)	Ефект = $T_{\text{дослід}} - T_{\text{контроль}}$ , хв
Контроль (гіпоксія) ( $n = 8$ )	0	$35,50 \pm 1,98$	0,00
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 ( $n = 8$ )	25	$38,33 \pm 0,67$	2,83
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 ( $n = 8$ )	100	$45,00 \pm 2,43^*$	9,50
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 ( $n = 8$ )	200	$42,83 \pm 2,12^*$	7,33

Примітка. Тут і в табл. 2: \* $p \leq 0,05$  порівняно з контролем.



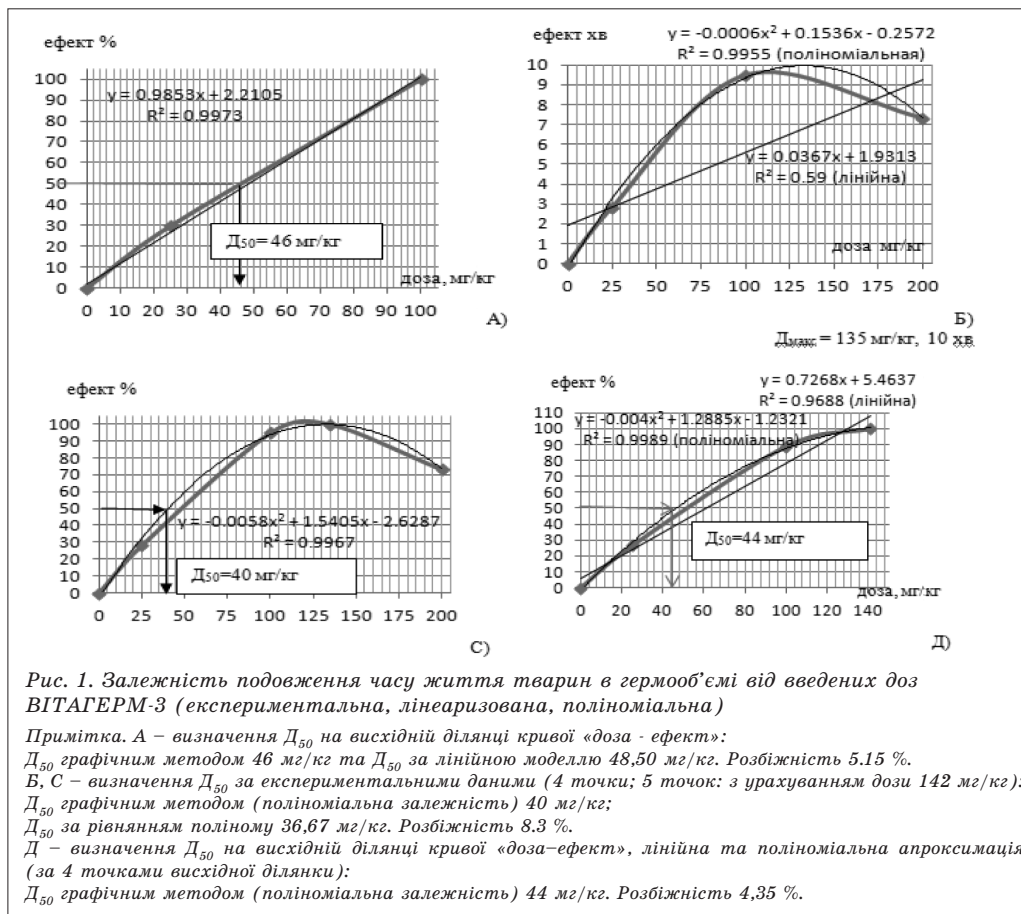


Рис. 1. Залежність подовження часу життя тварин в гермооб'ємі від введених доз ВІТАГЕРМ-3 (експериментальна, лінеаризована, поліноміальна)

Примітка. А – визначення  $D_{50}$  на висхідній ділянці кривої «доза - ефект»:

$D_{50}$  графічним методом 46 мг/кг та  $D_{50}$  за лінійною моделлю 48,50 мг/кг. Розбіжність 5,15 %.

В, С – визначення  $D_{50}$  за експериментальними даними (4 точки; 5 точок: з урахуванням дози 142 мг/кг):  $D_{50}$  графічним методом (поліноміальна залежність) 40 мг/кг;

$D_{50}$  за рівнянням поліному 36,67 мг/кг. Розбіжність 8,3 %.

Д – визначення  $D_{50}$  на висхідній ділянці кривої «доза-ефект», лінійна та поліноміальна апроксимація (за 4 точками висхідної ділянки):

$D_{50}$  графічним методом (поліноміальна залежність) 44 мг/кг. Розбіжність 4,35 %.

Таблиця 2

Час життя тварин у гермооб'ємі залежно від тривалості дії ВІТАГЕРМ-3 у дозі  $D_{50}$

Експериментальна група	Доза ВІТАГЕРМ-3, мг/кг	Час життя тварин у гермооб'ємі, хв (Т)	Ефект = $T_{\text{дослід}} - T_{\text{контроль}}$ , хв
Контроль (гіпоксія) (n = 8)	-	35,50 ± 2,29	-
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 (n = 8)	120	33,00 ± 1,12	0,00
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 (n = 8)	60	40,50 ± 0,93*	5,00
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 (n = 8)	0	45,00 ± 1,98*	9,50

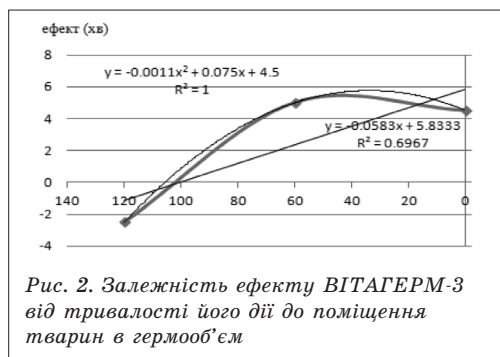


Рис. 2. Залежність ефекту ВІТАГЕРМ-3 від тривалості його дії до поміщення тварин в гермооб'єм

за яким знаходили точку екстремуму. Була знайдена його похідна ( $2 \cdot 0,0011x - 0,075$ ), у результаті прирівнювання якої до нуля знайшли, що оптимальний час введення ВІТАГЕРМ-3 у дозі  $D_{50}$  складає  $0,075/0,0022 = 34,09$  хв.

Таким чином, запропонований підхід дозволяє виконати розрахунок величин дози ( $D_{50}$ ) та оптимального часу введення потенційного лікарського засобу ВІТАГЕРМ-3.

1. Криштопенко Д. С. Непараметрический статистический анализ в зависимости доза-эффект / Д. С. Криштопенко, М. С. Тихов // Сборник тезисов: XIV Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование». – Пушино, М. – Иж.: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика». – в. 14–2007. – С. 142.
2. U. S. EPA Benchmark Dose Software (BMDS) Version 2.1 User's Manual Version 2.0, DRAFT. Doc No.: 53-BMDS-RPT-0028. — Washington, DC: Office of Environmental Information., 2009.
3. Altshuler B. Modeling of Dose-Response Relationships / B. Altshuler // Environ Health Perspect. – 1981. – V. 42. – P. 23–27.
4. Антомонов М. Ю. Построение зависимости «доза (уровень фактора) – время – эффект» с использованием экспоненциальных функций / Антомонов М. Ю., Русакова Л. Т. // Гигиена и санитария. – 1988. – № 6. – С. 42–44.
5. Martin A. Hamilton. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays / Martin A. Hamilton; Rosemarie C. Russo, Robert V. Thurston // Environ. Sci. Technol. – 1977. V. 11 (7). – P. 714–719.
6. Bates D. and D. Watts. Nonlinear regression analysis. – New York: John Wiley and Sons, 1988. – P. 365.
7. Супоненко А. Н. Органический германий и его применение в медицине [Электронный ресурс] / А. Н. Супоненко // Медицинская энциклопедия «Мединфа». – Режим доступа: <http://medinf.ru/article/107/118542/>
8. Величко О. М. Основи метрології та метрологічна діяльність. Навчальний посібник / О. М. Величко, А. М. Коцюба, В. М. Новіков. – К.: Вид. – во НАУКМА, 2000. – 228 с.

**В. Д. Лукьянчук, Е. А. Шебалдова, Д. С. Кравец, Л. С. Бобкова**  
**Исследование фармакометрических показателей режима дозирования антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3**

На модели гипоксического синдрома, развивающегося у крыс в замкнутом пространстве, с привлечением математического моделирования эффективности нового антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3, который представляет собой оригинальное координационное соединение германия, впервые разработан режим его дозирования. Предложенный подход позволяет вычислить величины среднеэффективной дозы и оптимального времени введения потенциального лекарственного средства ВИТАГЕРМ-3.

*Ключевые слова:* антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3, фармакометрические показатели, режим дозирования

**V. D. Lukyanchuk, K. O. Shebaldova, D. S. Kravets, L. S. Bobkova**  
**Dose regime pharmacometric researches of the new antihypoxant VITAGERM-3**

The studies were focused on the one of the key problems of modern pharmacometry – the development of the optimal dose regimen of the new antihypoxant at the stage of its pre-clinical study in conditions of closed space with progressive hypercapnia and the low  $pO_2$  in the inspired air. Earlier screening studies have been shown that the most perspective compound in pharmacometric aspect is a complex germanium compound based on donor-acceptor bonds – VITAGERM-3. The comprehensive methodological approach based on the mathematical model describing the dependence of the «dose-effect» was adopted to develop a dose regimen of VITAGERM-3. The animals' lifetime in the hermetic space was used as the criterion for the efficiency. The potential antihypoxant was administered to the rats singly at different doses (25, 100 and 200 mg/kg) at different terms (120 min, 60 min, and immediately before placing the animals in hermetic space). Further mathematical analysis of cubic polynomial in terms of determining the middle dose efficiency allowed to found out that its value in VITAGERM-3 administration in hypoxia in closed space. The optimal time of VITAGERM-3 administration was correctly modeled by a quadratic function with maximum at 36.04 min, and corresponded to the optimal time of VITAGERM-3 administration. Thus, the pharmacometric studies revealed that the average therapeutic effect of VITAGERM-3 in closed space hypoxia achieved by intraperitoneal injection in dose, which have found.

*Key words:* antihypoxants, VITAGERM-3, pharmacometric study, dose regimen

Надійшла: 22.04.2013 р.

**Контактна особа:** Лук'янчук Віктор Дмитрович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», буд. 1, кв. 50-річчя Оборони Луганська, м. Луганськ, 91045. Тел.: +38 0 642 63 02 77.

Н. В. Мельниківська, М. Я. Кудря, І. А. Палагіна, Н. В. Устенко,  
М. В. Жураковська, Т. О. Павленко, Ю. П. Сукова

## Роль 2-гідроксифенілсукцинамідів та $\beta$ -фенілетилсукцинамідів в реалізації антиоксидантних властивостей антидіабетичного засобу – похідного бурштинової кислоти

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології імені В. Я. Данилевського  
НАМН України», м. Харків

*Ключові слова: метаболіти  
антидіабетичного засобу,  
антиоксидантний захист, ферменти  
глутатіонової системи*

Відомо, що основною фізіологічною роллю активних форм кисню (АФК) є участь у катаболізмі старих та синтезі нових молекул. Проте надлишкова кількість АФК у здорових клітинах є агресивним фактором, сприяє формуванню каскаду реакцій, що призводять до руйнування реактин і, таким чином, розвитку патологічних процесів [1]. Такий механізм неспецифічний та є однією з патогенетичних ланок різної патології, у тому числі й цукрового діабету (ЦД). Постійне утворення прооксидантів урівноважує функціонування налагодженої захисної системи, до якої відносяться ферментативні та неферментативні антиоксиданти [2].

Перша лінія захисту від вільних радикалів представлена супероксиддисмутазою (СОД), яка каталізує реакцію дисмутації супероксидного аніон-радикала до пероксиду водню, та каталазою, яка запобігає накопиченню в клітинах  $H_2O_2$ , а також неспецифічним шляхом стимулює розпад гідропероксидів ліпідів [3, 1].

Ключова ланка антиоксидантного захисту (АОЗ) – система глутатіону, яка бере участь у реалізації низки важливих фізіологічних процесів: детоксикації, біохімічному перетворенні вітамінів С, Е, ліпоєвої кислоти, убіхінону. Крім того, глутатіон та глутатіонзалежні ферменти відіграють важливу роль у регуляції вуглеводно-

го, ліпідного, білкового та нуклеїнового обміну, у підтримці фізіологічного стану та функціонуванні біологічних мембран тощо [4]. Враховуючи викладене вище, застосування лікарських засобів з антиоксидантними та антирадикальними властивостями, здатних протидіяти посиленню вільнорадикальних процесів, є стратегічним та перспективним напрямом сучасної фармакотерапії ЦД.

У ДУ «ІПЕП» синтезовано сполуку з антидіабетичною активністю фенсукцинал (ФЦ), яка є похідним бурштинової кислоти, та призначено для гальмування клінічної маніфестації ЦД, корекції інсулінорезистентних станів, зокрема метаболічного синдрому, запобігання діабетичним мікро- та макроангіопатіям. Проведені доклінічні дослідження виявили антиоксидантні властивості ФЦ [5]. На теперішньому етапі вивчення потенційного лікарського препарату певний інтерес викликає питання, за рахунок якого з потенційних метаболітів, а саме 2-гідроксифенілсукцинамідів (2-ГФСА) та  $\beta$ -фенілетилсукцинамідів ( $\beta$ -ФЕСА), що можуть утворюватися в організмі у першу фазу біотрансформації ФЦ, останній активує АОЗ організму. Це пов'язано з тим, що саме метаболіти нерідко є носіями або фармакологічної активності, або токсичних властивостей вихідної субстанції.

*Мета дослідження* – вивчення впливу метаболітів першої фази біотрансформації ФЦ на систему АОЗ організму щурів.

*Матеріали та методи.* Роботу виконано на 96 нелінійних білих щурах-самцях масою 200–250 г, яких отримано з

віварію ДУ ШЕП. Дослідження проведено відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.) [6]. Щурів утримували на звичайному збалансованому харчовому раціоні та вільному доступі до води за умов віварію. Знеживлення тварин проведено методом декапітації під легким ефірним наркозом.

Досліджено стан системи АОЗ щурів за умов субхронічного 30-разового перорального введення метаболітів (синтезованих у ДУ «ШЕП») у вигляді водної емульсії з твін-80 2-ГФСА і  $\beta$ -ФЕСА у дозах, еквімолярних терапевтичній дозі ФЦ, що відповідно становили 17 і 18 мг/кг, а також у 4 рази більших, тобто – 68 і 72 мг/кг. Контрольні тварини отримували емульсію води з твін-80. Експерименти проведено на 96 щурах-самцях масою 200–250 г. Визначено рівень відновленого глутатіону (ГлВ) у цільній крові щурів [7], активність глутатіонпероксидази (ГП) (КФ 1.11.1.9) та глутатіонредуктази (ГР) (КФ 1.6.4.2) у гемолізаті еритроцитів [8, 9], ГП і глутатіон-S-трансферази (ГТ) (КФ 2.5.1.18) у гомогенаті печінки [8]. Крім того, визначали активність каталази (КФ 1.11.1.6) [10] та СОД (КФ 1.15.1.1) у гомогенатах печінки та підшлункової залози [8]. Також досліджено загальну антиокиснювальну активність сироватки (ЗАА) [11]. Як допоміжні показники для розрахунків активності ферментів у гемолізаті еритроцитів та тканинах органів визначено концентрацію загального гемоглобіну [12] та вміст білка за методом Бредфорда [13].

Статистичну обробку експериментальних даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою системи Анова. Нормальність розподілу в рядах визначали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка (W). Результати представлено у вигляді середнього арифметичного та його статистичної похибки ( $\bar{X} + s\bar{x}$ ). Множинне порівняння виконували за допомогою тесту Т'юкі. При перевірці статистичної гіпотези критичний рівень значущості приймали рівним  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** У результаті проведених досліджень встановле-

но, що за умов субхронічного перорального надходження 2-ГФСА у дозі 17 мг/кг у крові піддослідних щурів рівень ГлВ був значуще нижчим порівняно з даними контрольних тварин (табл. 1). У той самий час активність ГР у гемолізаті еритроцитів піддослідних щурів мала тенденцію до підвищення. Відомо, що основна роль ГР полягає в підтримці високої внутрішньоклітинної концентрації ГлВ шляхом відновлення його з окисненої форми. Незважаючи на високу специфічність ГР відносно глутатіону, даний фермент бере участь у відновленні інших молекул, що також мають дисульфідну групу, проте реакції відбуваються за низької швидкості. Тобто підвищення активності ГР на тлі зниження концентрації ГлВ, на нашу думку, має компенсаторно-приспосувальний характер.

У сироватці крові піддослідних щурів на тлі введення 2-ГФСА відмічено значуще зниження активності каталази та зменшення ЗАА, що ймовірно зумовлено підсиленням витрат біоантиоксидантів [14].

Аналіз процесів, що відбувалися за тих самих умов постановки експерименту в печінці, виявив значуще посилення активності каталази та ГП в її гомогенаті, що вказує на інтенсивне розщеплення гідроперексидів одночасно пероксидазним і каталазним шляхом.

За умов перорального надходження 2-ГФСА у дозі, що еквімолярна терапевтичній ФЦ, у гомогенаті підшлункової залози піддослідних тварин зареєстровано значущу активацію СОД при відсутності статистично значущих змін активності каталази (табл. 1). Відомо, що активність ферментів антиоксидантного захисту може змінюватися доволі специфічно, тобто не завжди спостерігається паралельність процесів різних рівнів антиоксидантного захисту [15, 16].

При субхронічній пероральній експозиції 2-ГФСА у дозі, що в 4 рази більша за попередню, зареєстровано значуще підвищення активності каталази в сироватці крові піддослідних тварин порівняно з аналогічними дани-

Таблиця 1

Показники системи антиоксидантного захисту в щурів за умов субхронічного перорального введення 2-ГФСА та β-ФЕСА у дозах, еквівалентних терапевтичній дозі ФЦ,  $\bar{X} \pm S\bar{x}$

Показник	Контроль	2-ГФСА, 17 мг/кг	β-ФЕСА, 18 мг/кг	
Глутатіон відновлений, мг/100 мл	22,1 ± 2,8	13,2 ± 1,7	31,4 ± 2,8	$p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіонредуктаза еритроцитів, мкмоль НАДФН/г Нв · хв	3,42 ± 0,48	4,52 ± 0,27	2,46 ± 0,37	$p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіонпероксидаза еритроцитів, мкмоль GSSG /г Нв · хв	172,9 ± 16,4	154,3 ± 15,3	208,1 ± 4,5	$p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіонпероксидаза печінки, нмоль GSSG /мг білка · хв	125,2 ± 13,4	202,8 ± 30,3	101,8 ± 6,8	$p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіон-S-трансфераза печінки, нмоль GS-ДНБ /мг білка · хв	75,9 ± 10,6	68,7 ± 5,4	55,7 ± 11,5	$p_1 \geq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \geq 0,05$
Активність каталази: – сироватка, мкат $H_2O_2$ /л; – печінка, нкат $H_2O_2$ /мг білка; – підшлункова залоза, мкмоль $H_2O_2$ /хв · г тканини	1,03 ± 0,03 3,87 ± 0,14 53,70 ± 3,17	0,79 ± 0,04 4,97 ± 0,26 68,3 ± 4,4	1,14 ± 0,07 4,09 ± 0,37 44,4 ± 1,1	$p_1 \leq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \leq 0,05$ $p_1 \leq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \leq 0,05$ $p_1 \leq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \leq 0,05$
СОД: – печінка, ум. од./мг білка; – підшлункова залоза, ум. од./мг тканини	402,5 ± 17,5 101,0 ± 8,5	464,8 ± 77,8 99,9 ± 7,1	369,4 ± 50,9 121,3 ± 4,9	$p_1 \geq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \geq 0,05$ $p_1 \geq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \geq 0,05$
ЗАА сироватки, %	47,1 ± 2,0	31,4 ± 3,3	43,1 ± 1,4	$p_1 \leq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \leq 0,05$

Примітка. Тут і в табл. 2:  $p_1 \leq 0,05$  – відхилення значущі при порівнянні контрольної групи та групи 2-ГФСА;

$p_2 \leq 0,05$  – відхилення значущі при порівнянні контрольної групи та групи β-ФЕСА;

$p_3 \leq 0,05$  – відхилення значущі при порівнянні груп 2-ГФСА та β-ФЕСА.



ми контрольних щурів (табл. 2), що характерно для каталазного шляху розщеплення перекису водню [17, 18]. Паралельно з цим у сироватці крові тварин зазначеної групи відмічено статистично значуще зростання ЗАА. Проте в гомогенаті підшлункової залози, навпаки, спостерігалось пригнічення каталазної активності на тлі відсутності змін з боку активності СОД (табл. 2). Таким чином, 2-ГФСА незалежно від дози чинить полімодальний вплив на систему антиоксидантного захисту тварин.

За умов субхронічного перорального надходження іншого метаболіту –  $\beta$ -ФЕСА у дозі 18 мг/кг з боку глутатіонової системи відмічено значуще зростання у крові піддослідних тварин рівня ГЛВ (табл. 2) та близьке до значущого підвищення активності ГП у гемолізаті еритроцитів. У зв'язку з тим, що спорідненість ГП до перекису водню вища навіть ніж у каталази, даний фермент більш ефективно працює за низьких концентрацій перексиду.

На тлі високої дози  $\beta$ -ФЕСА (72 мг/кг) спостерігали більш виражене посилення АОЗ різного рівня у тварин піддослідної групи порівняно з даними щурів контрольної групи (табл. 2). Зокрема, зареєстровано значуще підвищення активності ГР у гемолізаті еритроцитів та близьке до значущого зростання в крові концентрації ГЛВ. Крім того, відзначено статистично значущу активацію каталази як у сироватці крові піддослідних щурів, так і в гомогенаті печінки. Проте такі зміни не мали відображення у відносному значенні ЗАА.

За впливу  $\beta$ -ФЕСА у дозі, яка в 4 рази більша за еквімолярну терапевтичну дозу ФЦ (табл. 2), відзначено зниження активності деяких ферментів АОЗ у гомоге-

Таблиця 2

Показники системи антиоксидантного захисту в щурів за умов субхронічного перорального введення 2-ГФСА, та  $\beta$ -ФЕСА у субтоксичних дозах,  $\bar{X} \pm S\bar{x}$

Показник	Контроль	2-ГФСА, 68 мг/кг	$\beta$ -ФЕСА, 72 мг/кг	$p_1 \geq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіон відновлений, мг/100 мл	20,9 $\pm$ 2,1	14,5 $\pm$ 1,3	38,2 $\pm$ 5,1	$p_1 \geq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіонредуктаза еритроцитів, мкмоль НАДФН/г Нв · хв	2,41 $\pm$ 0,15	2,56 $\pm$ 0,25	4,05 $\pm$ 0,66	$p_1 \geq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіонпероксидаза еритроцитів, мкмоль GSSG/г Нв · хв	183,9 $\pm$ 12,9	139,0 $\pm$ 9,0	169,0 $\pm$ 14,0	$p_1 \leq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \geq 0,05$
Глутатіонпероксидаза печінки, нмоль GSSG/мг білка · хв	135,4 $\pm$ 17,5	146,4 $\pm$ 20,2	76,6 $\pm$ 8,4	$p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$
Глутатіон-S-трансфераза печінки, нмоль GS-ДНБ/мг білка · хв	99,7 $\pm$ 10,7	71,9 $\pm$ 8,0	88,8 $\pm$ 10,4	$p_1 \geq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \geq 0,05$
Активність каталази: – сироватка, мкат Н <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /л; – печінка, нкат/мг білка; – підшлункова залоза, мкмоль Н <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв · г тканини	0,99 $\pm$ 0,06 3,61 $\pm$ 0,34 57,3 $\pm$ 0,4	1,38 $\pm$ 0,03 3,03 $\pm$ 0,35 55,1 $\pm$ 0,2	1,24 $\pm$ 0,08 4,15 $\pm$ 0,22 58,6 $\pm$ 0,2	$p_1 \leq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \leq 0,05$ $p_1 \geq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \geq 0,05$ $p_1 \leq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \leq 0,05$
СОД: – печінка, ум. од./мг білка; – підшлункова залоза, ум. од./мг тканини	396,9 $\pm$ 49,7 136,5 $\pm$ 3,3	460,9 $\pm$ 73,8 129,8 $\pm$ 7,7	361,8 $\pm$ 36,3 119,1 $\pm$ 6,2	$p_1 \geq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \geq 0,05$ $p_1 \geq 0,05; p_2 \leq 0,05; p_3 \geq 0,05$
ЗАА сироватки, %	36,8 $\pm$ 3,1	50,3 $\pm$ 4,2	38,2 $\pm$ 6,2	$p_1 \leq 0,05; p_2 \geq 0,05; p_3 \geq 0,05$

натах органів, а саме ГП у печінці та СОД у підшлунковій залозі, але зазначені зміни знаходились на рівні, близькому до значущого.

При порівняльному аналізі ступеня активації системи АОЗ піддослідних тварин за умов надходження обох метаболітів виявлено перевагу  $\beta$ -ФЕСА над 2-ГФСА за впливом на дану систему.

Таким чином, обидва метаболіти ФЦ модулюють тіоловий статус організму тварин. Проте, на нашу думку, саме  $\beta$ -ФЕСА за умов субхронічної пероральної експозиції незалежно від рівня доз забезпечує прояв антиоксидантних властивостей ФЦ, впливаючи на систему глутатіону та ферменти антиоксидантного захисту.

## Висновки

1. 2-ГФСА – метаболіт антидіабетичного засобу фенсукциналу, викликає різноспрямовані зміни в системі АОЗ за умов перорального субхронічного надходження як у дозі, що еквімолярна терапевтичній дозі лікарського засобу, так і в дозі, що в 4 рази більша за неї.
2.  $\beta$ -ФЕСА за умов субхронічного введення здатний підвищувати активність системи АОЗ на рівні цілісного організму, а тому як активний метаболіт фенсукциналу відіграє важливу роль у реалізації антиоксидантних властивостей потенційного лікарського засобу при його застосуванні в терапевтичній дозі 25 мг/кг.

1. Сазонтова Т. Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма [Текст] / Т. Г. Сазонтова, Ю. В. Архипенко // Пат. физиол. и эксп. терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–18.
2. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты [Текст] / Е. Б. Меньшикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков [и др.]. – М.: Фирма «Слова», 2006. – 556 с.
3. Казимирко В. К. Антиоксидантная система и ее функционирование в организме [Электронный ресурс] / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев // Здоровье Украины. – 2004. – № 98. – Режим доступа: <http://www.health-ua.com./issue/98/html>
4. Глушков С. И. Нарушения системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия [Текст]: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.20, 03.00.04 / Глушков Сергей Иванович; Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. – СПб., 2006. – 44 с.
5. Горбенко Н. І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фенсукциналу в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень (експериментальне дослідження) [Текст]: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 14.01.14 / Горбенко Наталія Іванівна; Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України. – Х., 2004. – 36 с.
6. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
7. Мишенева В. С. Наличие глутатиона в нормальных и опухолевых тканях человека и животных [Текст] / В. С. Мишенева, Т. А. Горюхина // Вопр. онкологии. – 1968. – Т. 14, № 10. – С. 46–49.
8. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма [Текст]: метод. рекомендации / Рос. Акад. мед. наук; [авт. А. В. Арутюнян и др.] – СПб., 2000. – С. 76.
9. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС [Текст]: метод. рекомендації / МОЗ України, Акад. мед. наук України; [авт. Л. М. Овсяннікова та ін.] – К., 1999. – С. 7–9.
10. Метод определения активности каталазы [Текст] / М.А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
11. Состояние перекисного окисления у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки [Текст] / Л. П. Галактионова, А. В. Молчанов, С. А. Ельчанинова, Б. Я. Варшавский // Клин. лаб. диагностика. – 1998. – № 6. – С. 10–14.
12. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / [под ред. В. В. Меньшикова]. – М.: Медицина, 1987. – 386 с.
13. Гаспаров В. С. Определение белка по связыванию с красителем Кумасси бриллиантовым голубым G-250 / В. С. Гаспаров, В. Г. Дегтярь // Биохимия. – 1994. – Т. 59, вып. 6. – С. 763–775.
14. Теселкин Ю. А. Антиоксидантная активность плазмы крови как критерий оценки функционального состояния антиоксидантной системы организма и эффективности применения экзогенных антиоксидантов [Текст]: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.04 / Теселкин Юрий Олегович; Научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий ВИЛАР. – М., 2003. – 41 с.

- 
15. Metabolic coupling of glutathione between mouse and quail cardiac myocytes and its protective role against oxidative stress [Text] / T. Y. Nakamura, I. Yamamoto, Y. Kanno [et. al.] // *Circ. Res.*– 1994.– № 74.– P. 806–816.
  16. Oxidant-Antioxidant Balance in the Blood of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease After Smoking cessation [Text] / A Wozniak, D. Gorecki, M. Szpinda [et.al] // *Oxid Med Cell Longev.*– 2013.– № 8.– P. 970– 975.
  17. The administration of N-acetylcysteine reduces oxidative stress and regulates glutathione metabolism in the blood cells of workers exposed to lead [Text] / S. Kasperczyk, M. Dobrakowski, A. Kasperszyk [et. al] // *Clin Toxicol (Phila).*– 2013.– V. 51 (6).– P. 480–486.
  18. Is the cytosolic catalase induced by peroxisome proliferators in mouse liver on its way to the peroxisomes [Text] / A. M. Eriksson, B. Lundgren, K. Andersson, J. W. DePiere // *FEBS Lett.*– 1992.– V. 308.– P. 211–214.

***Н. В. Мельниковская, М. Я. Кудря, И. А. Палагина, Н. В. Устенко, М. В. Жураковская, Т.А. Павленко, Ю.П. Сукова***

**Роль 2-гидроксифенилсукцинамида и β-фенилэтилсукцинамида в реализации антиоксидантных свойств антидиабетического средства – производного янтарной кислоты**

Изучали влияние метаболитов потенциального антидиабетического средства фенсукцинала – производного янтарной кислоты на активность ключевых компонентов системы антиоксидантной защиты (АОЗ) у крыс. Установлено, что 2-гидроксифенилсукцинамид вызывает разнонаправленные изменения в системе глутатиона и активности других важных ферментов АОЗ при субхроническом поступлении в организм. Другой метаболит, β-фенилэтилсукцинамид при субхроническом введении оказывает стимулирующее действие на некоторые ферменты системы АОЗ, тем самым вносит определенный вклад в реализацию антиоксидантного действия самого лекарственного средства.

*Ключевые слова: метаболиты антидиабетического средства, антиоксидантная защита, ферменты глутатионовой системы*

***N. V. Melnikivskaya, M. Y. Kudria, I. A. Palagina, N. V. Ustenko, M. V. Zhurakovskaya, T. A. Pavlenko, Y. P. Sukova***

**The role of 2-hydroxyphenylsuccinamide and β-phenylethylsuccinamide in realization of antioxidant properties of the anti-diabetic medicine – succinic acid derivative**

It is known that the active metabolites generated by biotransformation of drugs often bear either the pharmacological activeness or toxicity of their initial substance. The paper focused on the influence of metabolites of the anti-diabetic medicine Phensuccinal (succinic acid derivative) on key components of the antioxidant protection (AOP) system in rats. We defined indices of the reduced glutathione level, activities of the glutathione reductase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, catalase, superoxide dismutase as well as the general antioxidant activeness. Experiments were conducted over the biosubstrate: serum, erythrocytes hemolysate, liver and pancreas homogenate. We have found that metabolites of the first phase biotransformation of Phensuccinal, 2-hydroxyphenylsuccinamide (2-HPhSA) and β-phenylethylsuccinamide (β-PhESA), are able to modulate the thiolous status of the rats' organism. Moreover, 2-HPhSA under its sub-chronic injection proved to cause varied changes in the glutathione system and in activeness of other important AOP enzymes. Another metabolite (β-PhESA) being sub-chronic injected showed a dose-independent stimulating effect on the glutathione system components, and so forth stipulated realization of the antioxidant effect of the medicine itself.

*Key words: antidiabetic medicine metabolites, antioxidant protection, enzymes of the glutathione system*

---

*Надійшла: 12.09.2013 р.*

**Контактна особа:** Мельниківська Наталя Вікторівна, кандидат біологічних наук, лабораторія токсикології та гігієнічного регламентування лікарських засобів, ДУ «Інститут проблем ендокринної патології імені В. Я. Данилевського НАМН України», буд. 10, вул. Артема, м. Харків, 61002.  
Тел.: +38 0 57 700 45 36. Електронна пошта: lab-tox@ukr.net.

Є. В. Стрелков, О. В. Паршиков, І. В. Кізуб, Н. С. Гула,  
Ю. О. Дуняк, Н. В. Добреля, О. С. Хромов

## Відеомікроскопічний аналіз скоротливої активності внутрішньолегенових артерій у реальному часі

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

*Ключові слова: легеневі артерії, прижиттєва мікроскопія, реактивні форми кисню*

Резистивні судини малого кола кровообігу, а саме внутрішньолегенові артерії (тобто, внутрішньолегенові відгалуження головних легенових артерій; ВЛА) та артеріоли мають потужний кільцевий м'язовий шар, що значною мірою визначає їхню провідну роль у регуляції легеневого кровотоку [1]. У той самий час, відмінності в будові магістральних та резистивних судин не є єдиними ознаками, що визначають їхні функціональні особливості. Різниця, зокрема, спостерігається й у реакціях на гуморальні фактори. Так, наприклад, внутрішньолегенові артерії значно менш чутливі до норадреналіну, адреналіну та ацетилхоліну порівняно з головними легеновими артеріями, водночас більш чутливі до гістаміну та брадикініну [2, 3]. Також суттєві відмінності спостерігаються у відповіді на гіпоксію, а саме: магістральні легеневі артерії відповідають на зниження парціального тиску кисню однофазним скороченням, за яким іде розслаблення [4]; а ВЛА відповідають двофазним скороченням, причому друга фаза зберігається протягом усього періоду гіпоксії [5]. Загалом, скорочення ВЛА вважають головним механізмом розвитку легенової гіпертензії внаслідок гіпоксії [6].

Ці, і не тільки, обставини роблять необхідним вивчення фізіологічних властивостей малих внутрішньолегенових артерій для розуміння механізмів регуляції легеневого кровообігу. Проте через відносно малий діаметр досліджуваних судин виникає проблема адекватної оцінки їхньої скоротливої актив-

ності. Тензометрія судин діаметром меншим за 200 мкм є досить проблематичною. У 1996 році Martin зі співавт. запропонував метод відеомікроскопічного аналізу тонких (200–250 мкм) прижиттєвих зрізів легень для оцінки скоротливої активності повітроносних шляхів, який полягав у розрахунку змін площини просвіту окремих бронхів на цифрових знімках, зроблених через рівні проміжки часу [7]. Згодом цей метод був застосований і для реєстрації реакцій ВЛА. Одним з головних недоліків методу була необхідність мануального налаштування програмного забезпечення для визначення площини просвіту (що може впливати на кінцевий результат) та неможливість реєстрації її змін у реальному часі.

*Мета дослідження* – модифікувати метод для оцінки зміни тонуусу легенових артерій діаметром менше 200 мкм за допомогою відеомікроскопічного аналізу тонких зрізів легень у реальному часі.

*Матеріали та методи. Піддослідні тварини.* Дослідження було проведено на 10 дорослих білих щурах-самцях лінії Wistar масою  $235 \pm 15$  г, яких утримували на стандартному раціоні віварію, що складається з сухих брикетованих комбікормів (віварій ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»). Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [8] та Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [9]. Тварин виводили з експерименту шляхом уведення летальної дози урета-

ну (400 мг на 100 г маси тіла; в/в). Експериментальні групи тварин формували методом випадкової вибірки.

*Підготовка тонкого зрізу легень.* Під внутрішньоочеревинним наркозом сумішшю хлоралою й уретану (1:10 за масою), 0,2 мг/100 г за хлоралою, виконували торакаотомію з наступною екстирпацією серця та легень en bloc. Серце та легені занурювали в розчин Хенкса (1,26 ммоль/л  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 5,33 ммоль/л  $\text{KCl}$ ; 0,44 ммоль/л  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,8 ммоль/л  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 138 ммоль/л  $\text{NaCl}$ ; 4,2 ммоль/л  $\text{NaHCO}_3$ ; 0,3 ммоль/л  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 5,6 ммоль/л глюкози), після цього відділяли одну з долей легень і за допомогою двох лез, розташованих паралельно на відстані 200 мкм, робили зріз долі перпендикулярно дистальній частині дольової артерії. Отриманий зріз переносили до термостабілізованої камери з температурою розчину Хенкса  $37^\circ\text{C}$  та притискали за допомогою двох нейлонових ниток, закріплених на платиновому напівкільці. Камеру розміщували на предметному столику інвертованого мікроскопа Біолам П-1 («Ломо», Росія). Дослідження проводили при 100-разовому збільшенні зображення. На зрізі знаходили просвіт наявного сегмента дольової артерії (діаметром 100–250 мкм). Стан судинної стінки після фіксації зрізу в камері стабілізували 30 хв.

Протягом експерименту за допомогою цифрової камери з роздільною здатністю 5 Мп («Trek», Китай) отримувалися знімки через рівні проміжки часу з частотою  $5 \text{ хв}^{-1}$ .

Здатність препаратів легневих артерій до скорочення визначали за допомогою 5-хв реакції на розчин Хенкса, що містив 40 ммоль  $\text{KCl}$  (деполяризуючий розчин). Величину цієї реакції надалі використовували для нормування наступних реакцій відповідного препарату. Зміни тонуусу сегмента ВЛА розраховували у відсотках від амплітуди максимального скорочення у відповідь на деполяризуючий розчин ( $S_K$ ).

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

*Розрахунок змін площини просвіту ВЛА.* Отримані знімки обробляли в реальному часі програмою ImageJ (National Institutes of Health, США) за допомогою створеного нами алгоритму, написаного на мові ImageJ Macro Language: одразу після отримання зображення переводили в 8-бітний формат (шкала сірого), та за допомогою алгоритму детектора меж Канні-Деріха [10] виявляли межі просвіту ВЛА, після чого розраховували площину просвіту ВЛА у пікселях. На основі отриманих значень будували графік, що оновлювали після отримання кожного знімку.

*Реєстрація тонуусу ізольованих головних легневих артерій щурів.* Легені разом із серцем було видалено та розміщено в розчині Кребса наступного складу: 118 ммоль/л  $\text{NaCl}$ , 24 ммоль/л  $\text{NaHCO}_3$ , 1 ммоль/л  $\text{MgSO}_4$ , 0,435 ммоль/л  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 5,56 ммоль/л глюкози, 1,8 ммоль/л  $\text{CaCl}_2$  та 4 ммоль/л  $\text{KCl}$ . Легеневі артерії було видалено із легень, відділено від сполучної тканини, порізано на кільцеві сегменти та розміщено в камері міографа (Danish Myo Technology, Данія), наповненій фізіологічним сольовим розчином, термостатованим до  $37^\circ\text{C}$  та аерованим газовою сумішшю, яка містила 21%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$  та 74%  $\text{N}_2$ ; (pH 7,3–7,4). До початку експерименту судинні препарати підлягали пасивному розтягненню з силою 0,25 г та періодичній стимуляції розчином Кребсу, що містив 40 ммоль  $\text{KCl}$  до досягнення стабільних скоротливих відповідей. Реєстрацію судинного тонуусу здійснювали за допомогою датчиків напруження (Danish Myo Technology, Данія) та комп'ютерної програми Datatrac 2 (World Precision Instruments Inc., США). Рівень судинного тонуусу розраховували як відсоток від максимального скорочення препаратів (ТК) у відповідь на 5 хв аплікацію деполяризуючого розчину.

*Статистичний аналіз отриманих результатів.* Фактичний матеріал було оброблено методами варіаційної статистики. Проводили тест на нормальність розподілу Шапіро-Уїлка, нормально розподілені дані обчислювали за критерієм Стьюдента для



залежних вибірок з урахуванням тесту Левена на гомогенність вибірки. Дані представлено у вигляді середнього  $\pm$  похибки середнього ( $M \pm m$ ). Статистично значущими вважали зміни в довірчому інтервалі не менше ніж 95%, або  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Інкубація зрізу легень протягом 5 хв у розчині Хенксу, який містив 40 ммоль KCl (деполяризуючий розчин), призводила до значного скорочення сегментів ВЛА. Площина просвіту при цьому зменшувалася в середньому на  $43,1 \pm 5,2\%$  ( $P < 0,05$ ;  $n = 5$ ; рис. 1). Наступна зміна розчину на стандартний викликала поступове розслаблення сегментів артерій та повернення площини просвіту приблизно до початкових величин (рис. 2). Повна нормалізація відбувалася через 25–35 хв.

З метою виявлення особливостей реактивності дільових ВЛА порівняно із головними легеневиими артеріями ми використовували перекис водню ( $H_2O_2$ ). Відомо, що  $H_2O_2$  здатен викликати скорочення легеневиих артерій на відміну від системних артерій, у яких відбувається розслаблення.

Зміна розчину в інкубаційній камері на такий, що містив 100 мкмоль перекису водню, призводила до розвитку

двофазного скорочення сегментів ВЛА (рис. 2).

Перша фаза скорочення була транзитornoю тривалістю приблизно 2 хв. Її амплітуда складала в середньому  $16,2 \pm 1,4\%$   $S_K$  ( $p < 0,05$ ). Транзитorna фаза змінювалася поступово наростаючою тривалою фазою. Приблизно через 20 хв після аплікації  $H_2O_2$  вона виходила на плато з амплітудою  $47,6 \pm 2,4\%$   $S_K$  ( $p < 0,05$ ). Слід відзначити, що реакція була необоротною і площа просвіту ВЛА суттєво не змінювалася після усунення  $H_2O_2$  з інкубаційної камери. Подібну двофазну реакцію ВЛА на перекис водню раніше також продемонстрував Roumahnam та співавт. за допомогою тензометричного методу [11].

Деполяризуючий розчин викликав підвищення тонуусу головних легеневиих артерій в середньому на  $56 \pm 2,4\%$  ( $p < 0,05$ ;  $n = 5$ ). Реакція головних легеневиих артерій на перекис водню суттєво відрізнялася за своїм характером від реакції ВЛА. Аплікація  $H_2O_2$  призводила до розвитку однофазного скорочення амплітудою  $23,2 \pm 2,1\%$   $T_K$  ( $p < 0,05$ ,  $n = 5$ ), яке поступово переходило в розслаблення до  $-42,6 \pm 3,2\%$   $T_K$  ( $p < 0,05$ ) на 20 хв реакції. Подібна реакція на перекис водню

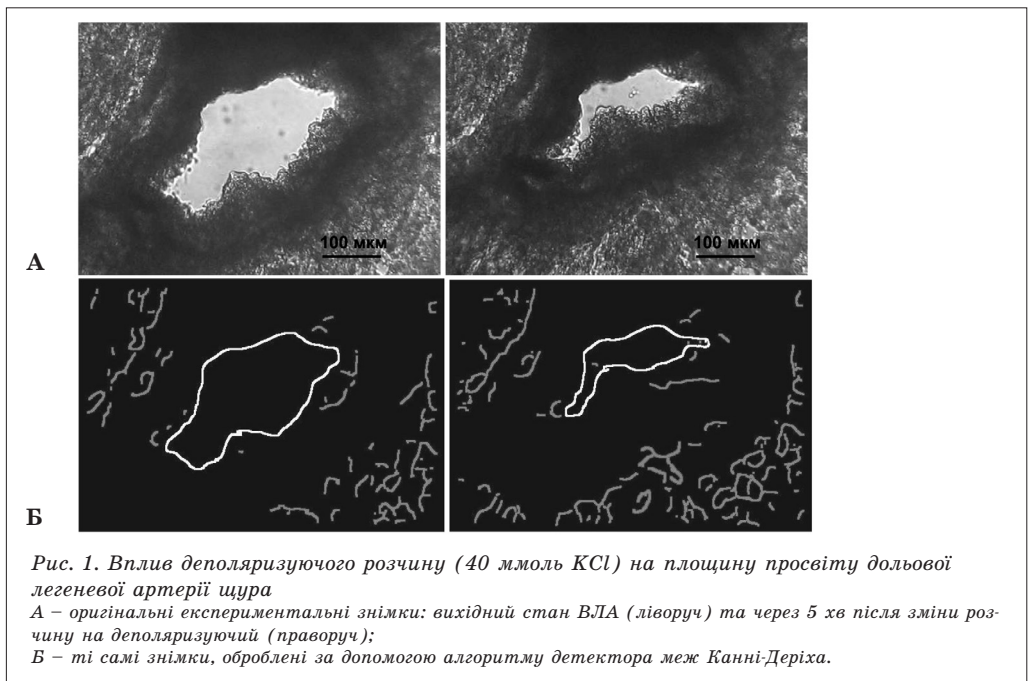
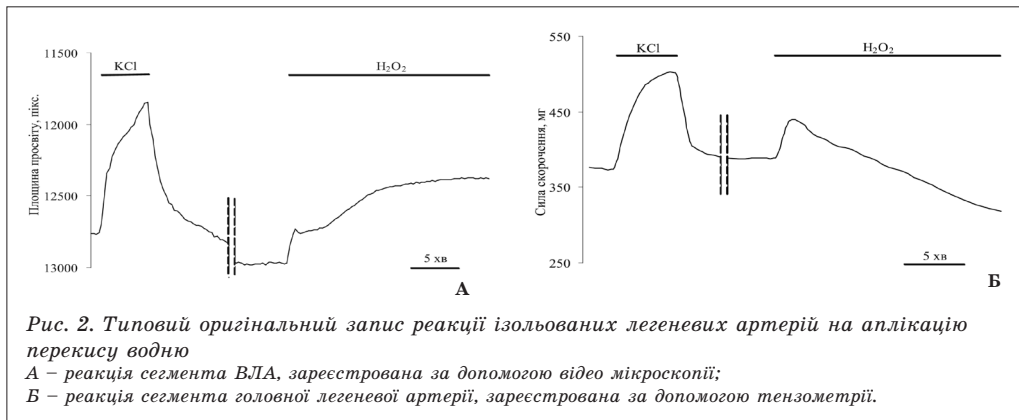


Рис. 1. Вплив деполаризуючого розчину (40 ммоль KCl) на площину просвіту дільової легеневої артерії щура

A – оригінальні експериментальні знімки: вихідний стан ВЛА (ліворуч) та через 5 хв після зміни розчину на деполаризуючий (праворуч);

B – ті самі знімки, оброблені за допомогою алгоритму детектора меж Канні-Деріха.



**Рис. 2.** Типовий оригінальний запис реакції ізольованих легеневих артерій на аплікацію перекису водню  
 А – реакція сегмента ВЛА, зареєстрована за допомогою відео мікроскопії;  
 Б – реакція сегмента головної легеневої артерії, зареєстрована за допомогою тензометрії.

раніше була продемонстрована і в системних артеріях [12].

Отримані результати підтверджують наявність суттєвих відмінностей скоротливих властивостей ВЛА порівняно з головними легеневими артеріями. На наш погляд, використання методу відео-мікроскопічного аналізу змін тонусу

ВЛА дозволяє проводити докладні дослідження як фізіологічних, так і патофізіологічних механізмів його регуляції. Крім того, цей метод може бути вкрай корисним при дослідженні впливу потенційних лікарських засобів на легеневий кровообіг у межах оцінки загальної фармакологічної безпеки.

1. Micropuncture measurement of lung microvascular pressure profile during hypoxia in cats / Y. Nagasaka, J. Bhattacharya, S. Nanjo [et al.] // *Circ. Res.* – 1984. – V. 54. – P. 90–95.
2. A comparison of the pharmacological and mechanical properties *in vitro* of large and small pulmonary arteries of the rat / R. M. Leach, C. H. Twort, I. R. Cameron, J. P. Ward // *Clin. Sci. (Lond.)* – 1992. – V. 82. – № 1. – P. 55–62.
3. Different contractile properties between intralobar and extralobar pulmonary arteries of the rabbit / M. K. Park, T. M. Kang, D. Y. Uhm [et al.] // *J. Smooth Muscle Res.* – 1999. – V. 35. – № 1. – P. 1–10.
4. Differential distribution of electrophysiologically distinct myocytes in conduit and resistance arteries determines their response to nitric oxide and hypoxia / S. L. Archer, J. M. Huang, H. L. Reeve [et al.] // *Circ. Res.* – 1996. – V. 78. – № 3. – P. 431–442.
5. Robertson T. P. Hypoxic vasoconstriction and intracellular  $Ca^{2+}$  in pulmonary arteries: evidence for PKC-independent  $Ca^{2+}$  sensitization / T. P. Robertson, P. I. Aaronson, J. P. Ward // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1995. – V. 268. – P. H301–H307.
6. Hypoxic pulmonary vasoconstriction / J. T. Sylvester, L. A. Shimoda, P. I. Aaronson, J. P. Ward // *Physiol. Rev.* – 2012. – V. 92. – № 1. – P. 367–520.
7. Martin C. Videomicroscopy of methacholine-induced contraction of individual airways in precision-cut lung slices / C. Martin, S. Uhlig, V. Ullrich // *Eur. Respir. J.* – 1996. – V. 9. – № 12. – P. 2479–2487.
8. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» // *Відомості Верховної Ради України.* – 2006. – № 27. – С. 230.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
10. Deriche R. Using Canny's criteria to derive a recursively implemented optimal edge detector / *Deriche R.* // *Int. J. Computer Vision.* – 1987. – V. 1. – P. 167–187.
11. Constriction of pulmonary artery by peroxide: role of  $Ca^{2+}$  release and PKC / G. E. Pourmahram, V. A. Snetkov, Y. Shaifita [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – V. 45, № 10. – P. 1468–1476.
12.  $H_2O_2$  effects on cerebral prostanoids and pial arteriolar diameter in piglets / C. W. Leffler, D. W. Busija, W. M. Armstead, R. Mirro // *Am. J. Physiol.* – 1990. – V. 258. – P. H1382–H1387.

**Е. В. Стрелков, А. В. Паршиков, И. В. Кизуб, Н. С. Гула, Ю. О. Дуняк, Н. В. Добреля, А. С. Хромов**

### **Видеомікроскопічний аналіз скоротильної активності внутрілегочних артерій в реальному часі**

В статтю пропонується нова модифікація методу прижизненої мікроскопії тонких срезів легких малих лабораторних тварин, що дозволяє оцінювати зміни тонусу внутрілегочних артерій в реальному часі. В результаті порівняння впливу  $H_2O_2$  (100 мкмоль) на головні і внутрілегочні артерії були виявлені суттєві відмінності в їх реактивності. Представлений

---

---

метод может быть полезным для изучения физиологических и патофизиологических механизмов регуляции легочного кровообращения, а также при оценке общей фармакологической безопасности лекарственных препаратов.

*Ключевые слова:* легочные артерии, прижизненная микроскопия, реактивные формы кислорода

**I. V. Strielkov, O. V. Parshikov, I. V. Kizub, N. S. Gula,  
Y. O. Duniyuk, N. V. Dobrelya, O. S. Khromov**  
**Real-time videomicroscopic analysis of contractile activity  
of intrapulmonary arteries**

Main pulmonary arteries and intrapulmonary arteries (IPA) are known to have significant differences in pharmacological and physiological properties. These differences are observed in responses to hypoxia, reactive oxygen species and various mediators. Considering this, studies of IPA reactivity are important for the understanding of the regulation of pulmonary circulation. However, the evaluation of IPA tonus may be complicated due to small diameter of these vessels (less than 200  $\mu\text{m}$ ). A new modification of the method of microscopy of living precision-cut lung slices of small laboratory animals has been presented in the article. It allows real-time assessment of vascular tone of intrapulmonary arteries using automatic software analysis of the lumen area of IPA in precision-cut lung slices based on the Canny-Deriche edge detection algorithm. Significant differences between reactive properties of main pulmonary arteries and intrapulmonary arteries have been observed in the reactions induced by hydrogen peroxide (100  $\mu\text{M}$ ). Main pulmonary arteries responded to  $\text{H}_2\text{O}_2$  with transient constriction followed by a slowly developing relaxation. On the other hand, the constriction of IPA was biphasic. It consisted of the rapid transient phase and the sustained phase. The presented method may be advantageous for the study of physiological and pathophysiological mechanisms of pulmonary vascular tone regulation as well as for the safety pharmacology studies.

*Key words:* pulmonary arteries, real-time microscopy, reactive oxygen species

---

Надійшла: 01.10.2013 р.

**Контактна особа:** Стрелков Євген Валентинович, молодший науковий співробітник,  
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03680.  
Тел.: +38 0 44 456 02 88. Електронна пошта: strielkov@yahoo.com

К. В. Григор'єва

## Морфофункціональний стан органів імунної системи під впливом сполуки Флудинат

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

*Ключові слова:* Флудинат, 5-фторурацил, протипухлинна дія, морфологічне дослідження, імунна система

5-фторурацил входить до більшості схем хіміотерапії пухлин шлунково-кишкового тракту [1–3]. Основними недоліками 5-фторурацилу, як і інших цитостатиків, є токсичні ефекти, а саме, пригнічення росту не тільки пухлини, а й усіх активно проліферуючих тканин організму, у тому числі імунної системи [7, 8]. Велика кількість досліджень присвячена пошуку нових сполук, які можуть діяти подібно 5-фторурацилу. Фосфорильований урацил – Флудинат (був створений та вивчається в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України») є транспортною формою 5-фторурацила. За попередніми даними він має більш низьку токсичність [9]. Враховуючи той факт, що період лікування протипухлинними засобами, як правило, досить тривалий, вважали за необхідне вивчити зміни, що відбуваються в центральних (кістковий мозок, тимус) та периферичних (селезінка) органах імунної системи [7, 8]. Відсутні відомості про порівняльний аналіз морфологічних змін у цих органах під впливом Флудинату та 5-фторурацилу, які дозволили б встановити локалізацію та інтенсивність можливих імунних перебудов.

*Мета дослідження* – вивчення дії Флудинату на стан органів імунної системи порівняно з 5-фторурацилом.

*Матеріали та методи.* Дослідження виконано на білих нелінійних щурах з масою тіла (110–130) г. Усіх тварини розподілено на три групи: перша група – інтактні тварини ( $n = 5$ ), друга група ( $n = 5$ ) – тварини, яким вводили сполуку Флудинат (447 мг/кг) та третя група ( $n = 5$ ) – тварини, яким вводили

препарат порівняння 5-фторурацил (136 мг/кг). Препарати вводили внутрішньочеревно в дозах, що дорівнюють  $LD_{50}$  для кожного з них, за схемою 4 уведення кожні 72 год. Об'єктом морфологічного дослідження були кістковий мозок, виличкова залоза та селезінка. Якісну оцінку результатів проводили на 1, 3, 7 та 14 добу після введення препаратів. Призначені для гістологічного дослідження шматочки тканин фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, за стандартизованими методиками зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації та поміщали в парафін [3–5]. Гістологічні зрізи товщиною 3–5 мкм фарбували гематоксиліном-еозином. Препарати вивчали та фотографували за допомогою мікроскопа Olympus VX41 та фотокамери.

*Результати та їх обговорення.* Після останнього введення сполуки Флудинат у дозі  $LD_{50}$  на 1 добу у всіх досліджуваних випадках було відмічено майже повне зникнення з кісткового мозку зрілих форм клітин гемопоезу. У тимусі та селезінці не було виявлено будь-яких змін. Під впливом 5-фторурацилу спостерігали такі самі зміни в структурі кісткового мозку, вони мали такий самий ступінь виразності, як у випадку Флудинату, виявлялися в усіх тварин (рис. 1 А, Б, В). Наведені дані свідчать, що на 1 добу після введення Флудинату та флуороурацилу відбувалося пригнічення гемопоезу в кістковому мозку. У тимусі результатом впливу 5-фторурацилу були альтеративні зміни лімфоцитів коркової та мозкової речовини, а саме, реєстрували наявність клітин у стані апоптозу та некрозу. Дані морфологічні ознаки після введення 5-фторурацилу в селезінці та в корковій і мозковій речовині тимуса спостерігали вже на 1 добу в більшості тварин (рис. 2).



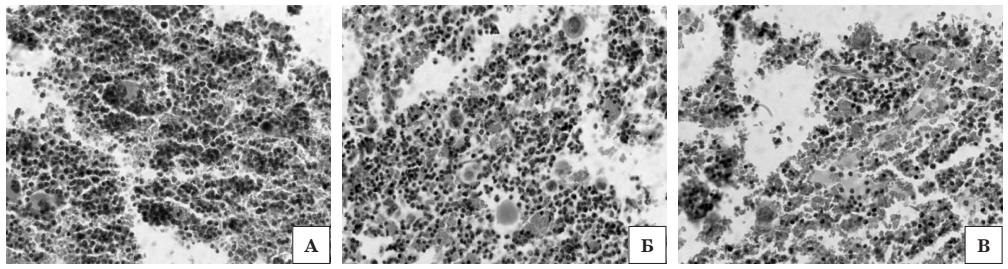


Рис. 1. Гістологічна структура кісткового мозку щура на 1 добу  
 А – контрольна група; Б – після введення Флудинату; В – після введення 5-фторурацилу  
 Зб × 200. Гем. – еоз.

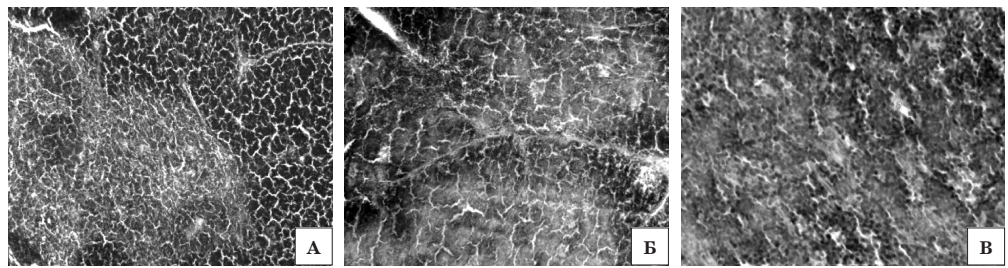


Рис. 2. Гістологічна структура тимуса щура на 1 добу  
 А – контрольна група; Б – після введення Флудинату; В – після введення 5- фторурацилу.  
 Зб × 200. Гем. – еоз.

На 3 добу після введення сполуки Флудинат у численних синусах клітин кісткового мозку спостерігали лише окремі острівці гемопоезу, у яких знаходились клітини на різних стадіях дозрівання, зрілі клітини кісткового мозку були майже відсутні. Під впливом 5-фторурацилу стан кісткового мозку характеризувався також наявністю ознак прогресуючого пригнічення еритро-, грануло- та тромбоцитопоезу, майже до повного виснаження, у більшості тварин. Ступінь виразності означених змін був однаковий при порівнянні обох сполук. У селезінці всіх тварин відмічалися прояви виснаження – підвищений розпад лімфоцитів, відсутність ознак формування реактивних центрів у лімфатичних фолікулах.

Як під впливом Флудинату, так і 5-фторурацилу в усіх випадках були наявні деструктивні зміни тимоцитів у вилочковій залозі різного ступеня виразності. Межа між корковою та мозковою речовиною була нечіткою, спостерігали апоптози та некрози лімфоцитів як в кірковій, так і в мозковій речовині тимуса. При застосуванні 5-фторурацилу на 3 добу були наявні виражені ознаки гіпоплазії білої пуль-

пи селезінки в деяких тварин аж до апластичного стану. Ці дані свідчать про подальше пригнічення проліферативного потенціалу клітин кісткового мозку, тимуса та селезінки в усіх тварин унаслідок дії обох цитостатиків, початок якого спостерігали на 1 добу дослідження.

На 7 добу після введення сполуки Флудинат та 5-фторурацилу, як і в попередні терміни дослідження, у всіх тварин продовжували спостерігати морфологічні прояви альтеративних змін тимоцитів у вилочковій залозі (апоптоз, некроз) та виснаження гемопоезу в селезінці з наявністю великої кількості апоптозних клітин. Одночасно спостерігали початкові прояви відновлення гемопоезу в кістковому мозку (наявність великої кількості клітин – попередників гемопоезу, у тому числі, мегакаріоцитів) та лімфопоезу в тимусі (велика кількість бластних клітин та значна їхня мітотична активність). Отримані морфологічні дані свідчать про активізацію відновлювальних процесів на 7 добу спостережень у досліджуваних органах після впливу на них обох цитостатиків.

На 14 добу дослідження в кістковому мозку, селезінці та тимусі обох експери-



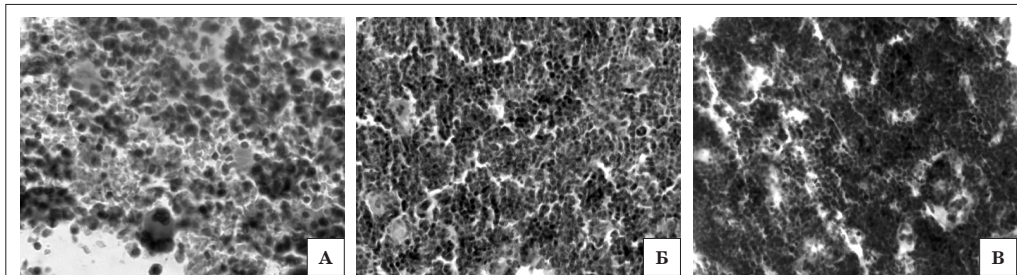


Рис. 3. Гістологічна структура кісткового мозку щура на 14 добу  
 А – контрольна група, Б – після введення Флудинату; В – після введення 5-фторурацилу.  
 36 × 200. Гем. – еоз.

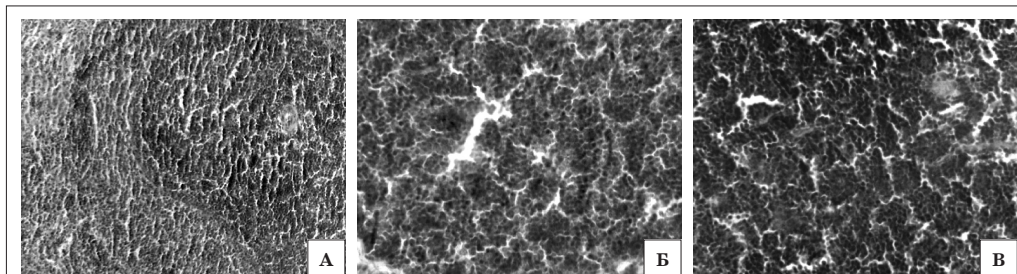


Рис. 3. Гістологічна структура тимуса щура на 14 добу  
 А – контрольна група, Б – після введення Флудинату; В – після введення 5-фторурацилу.  
 36 × 200. Гем. – еоз.

ментальних груп (Флудинат, 5-фторурацил) у всіх тварин були виявлені морфологічні прояви гіперпластичних процесів – значне збільшення кількості клітин – попередників гемопоєзу в кістковому мозку (рис. 3) та навколо дрібних артерій у білій та червоній пульпі селезінки, велика кількість клітин у стані мітотичного поділу у тканині вилочкової залози. Спостерігали велику кількість вогнищ щільно розташованих гіперхромних лімфоцитів у корковій речовині тимуса та лімфоїдних елементів у мозковій речовині (рис. 4).

### Висновки

Таким чином, якісні морфологічні характеристики кісткового мозку, селезінки та тимуса вказують на наявність змін їхньої структури в усіх експериментальних тварин під впливом Флудинату і 5-фторурацилу. Ознаки деструктивного впливу досліджуваної

речовини та 5-фторурацилу виникають на 1 добу після введення та проявляються виснаженням процесів гемопоєзу, що може бути ознакою пригнічуючого впливу обох речовин на кістковий мозок. Під впливом 5-фторурацилу, на відміну від його транспортної форми, до цих змін вже на 1 добу приєднувались виражені прояви порушення структури селезінки та тимуса майже в усіх тварин. Це свідчить про більш виражений токсичний вплив 5-фторурацилу. Альтеративні зміни в досліджуваних органах найвиразнішими були на 3 добу спостережень. Початкові ознаки регенерації кісткового мозку, клітин селезінки та тимуса при застосуванні сполуки Флудинат та 5-фторурацилу з'явилися на 7 добу експерименту. Поступову регенерацію тканин кісткового мозку, тимуса та селезінки спостерігали на 14 добу дослідження в усіх тварин.

1. Antiproliferative effects of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cell lines: comparison of three different cytotoxicity assays/ A. Failli, A. Legitimo, G. Orsini [et. Al.] // J. Biol Regul Homeost Agents.– 2013.– № 1.– P. 275–84.
2. Motawi T. K. Effect of protein malnutrition on the metabolism and toxicity of cisplatin, 5-fluorouracil and mitomycin C in rat stomach / T. K. Motawi, H. M. Abd-Elgawad Shahin // Food Chem Toxicol.– 2013.– V. 13. –. P. 151–158.
3. Marin-Vicente C. The effects of 5-fluorouracil on the proteome of colon cancer cells / C. Marin-Vicente Lyutvinskiy, P. Romans Fuertes, Zubarev R.A // Visa N. J. Proteome Res.– 2013.

- 
4. Прозоровский В. Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты / Прозоровский В. Б. // Токсикологический вестник.– 1998.– № 1.– С. 28–32.
  5. Litchfield I. F. Simplified method of evaluating dose – effect experiments/ Litchfield I. F., Wilcoxon F.M. A. // J. Pharmacol. Exp. Ther.– 1949.– № 2.– P. 93–113.
  6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (Методичні рекомендації)/За ред. О. В. Стефанова.– К.: Авіцена, 2001.– 527 с.
  7. Зидермане А. А. Фторпиримидины в химиотерапии опухолей / А. А. Зидермане.– Рига: Зинатне, 1982.– 173с.
  8. Фторпиримидины в химиотерапии опухолей желудочно-кишечного тракта / И. Б. Щепотин, С. И. Киркилевский, Е. А. Колесник, А. В. Лукашенко. –Х.: ФОП Мартиняк, 2009.– 271с.
  9. The development of less toxic compound Fludinat – the new transport form of fluorouracil International conference «Tumor and host: novel aspects of old problem» / G. Kudrjatzeva, N. I. Sharykina // Experimental oncology.– 2010.– V. 32.– P. 87. I. O. A.

**Е. В. Григорьева**

### **Мофофункциональное состояние органов иммунной системы под влиянием соединения Флудинат**

Проведено сравнительное морфологическое исследование органов иммунной системы (костный мозг, тимус, селезенка) при введении нового потенциального противоопухолевого соединения Флудинат, транспортной формы 5-фторурацила, которое по предварительным данным менее токсично, чем 5-фторурацил при сохранении противоопухолевого эффекта. Эксперимент проведен на белых нелинейных крысах. Для исследования был использован метод гистологической оценки. Показан однонаправленный характер и степень выраженности структурных изменений органов иммунной системы при введении как Флудината, так и 5-фторурацила. Признаки деструктивного влияния исследованного вещества и 5-фторурацила возникают на 1 сутки. Наибольшей выраженности альтеративные изменения достигали на 3 сутки эксперимента. Постепенное восстановление структуры органов после введения соединений начиналось на 7 и 14 сутки эксперимента.

*Ключевые слова:* Флудинат, 5-фторурацил, противоопухолевое действие, морфологическое исследование, иммунная система

**Е. V. Grygorieva**

### **Immune system morphofunctional state after Fludinat administration**

Morphological study of immune system organs (bone marrow, spleen, thymus) after a new antitumor substance Fludinat administration has been carried out. According to the previous findings, the substance is less toxic than 5-fluorouracil preserving its antitumor effect. White rats were used in the study. Histological processing of tissues was applied. There were shown the unidirectional qualitative changes of bone marrow, spleen and thymus as after Fludinat and 5-fluorouracil administrations. Morphological signs of alteration were shown on the 1th day after injection of both substances. Pronounced signs of spleen and thymus alteration were shown on the 1th day after 5-fluorouracil administration, in contrast to its transport form. The most marked destructive changes were seen on the 3th day. The gradual renewal of bone marrow structure after injection of both substances was shown on the 7th day of the experiment. It was accompanied by the same changes in spleen and thymus. The signs of gradual renewal were revealed in two weeks after beginning of the experimental study.

*Key words:* Fludinat, 5-fluorouracil, morphological study, immune system

Надійшла: 04.10.2013 р.

---

**Контактна особа:** Григор'єва К. В., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 91 98.

## РЕЦЕНЗІЯ

**на підручник «Фармакологія» для студентів  
стоматологічних факультетів медичних  
вузів України III–IV рівнів акредитації /  
І. С. Чекман, В. М. Бобирьов, В. Й. Кресюн та ін.–**

**Вінниця: Нова книга, 2011.– 480 с.**

За новітніх досягнень фармакології, фармації та бурхливого розвитку фармацевтичного ринку однією з важливих проблем навчання у вищих медичних навчальних закладах є інтенсифікація навчання з фармакології майбутніх спеціалістів-лікарів з метою формування в них клінічного мислення.

Сьогодні видана низка підручників з фармакології, переважна більшість яких адаптована до потреб студентів медичних факультетів. Однак недостатньо навчальної літератури, яка була б профільною для студентів стоматологічних факультетів. Тому виникла необхідність у впровадженні в навчальний процес сучасного підручника з фармакології для майбутніх лікарів-стоматологів. Рецензований підручник «Фармакологія», підготовлений співробітниками кафедр фармакології провідних вузів з підготовки лікарів-стоматологів – ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України, Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, Одеського національного медичного університету МОЗ України, на наш погляд, вирішує дві головні проблеми вивчення фармакології студентами стоматологічних факультетів вищих медичних навчальних закладів України III–IV рівнів акредитації. По-перше, об'ємний і складний матеріал з фармакології представлений у простій, зручній і наочній для вивчення формі. По-друге, інформація викладена з урахуванням професійної спрямованості та специфіки надання стоматологічної медичної допомоги.

Матеріал підручника представлений 3 частинами, що включають 18 розділів, у яких викладені основні відомості

про лікарські засоби, що використовуються в практиці лікаря-стоматолога.

У I частині висвітлені питання загальної фармакології, основи фармакокінетики, фармакодинаміки та фармакотоксикодинаміки лікарських засобів. Питанням спеціальної фармакології присвячено 13 розділів II частини. Окремо наведено принципи фармакотерапії основних стоматологічних захворювань у терапевтичній, хірургічній практиці та основи надання невідкладної допомоги у стоматологічній практиці. Закінчується підручник III частиною, у якій висвітлено основні відомості загальної рецептури, правила виписування лікарських форм, що найчастіше використовуються лікарями-стоматологами.

Підручник написаний професійно, державною мовою. За змістом матеріал повністю відповідає існуючій типовій навчальній програмі з фармакології для лікарів-стоматологів та вимогам викладання дисциплін за кредитно-модульною системою. На особливу увагу заслуговує прекрасне оформлення та стиль видання. Наведені схеми й рисунки оригінальні та відрізняються високою інформативністю.

Таким чином, даний підручник є фундаментальною працею і повністю відповідає сьогоденним вимогам до навчальної медичної літератури. Вважаю, що цей підручник заслуговує високої урядової оцінки і може бути поданий на здобуття Державної премії України в галузі науки і техніки.

*Т. А. Бухтіарова,  
директор ДУ «Інститут фармакології  
та токсикології НАМН України»,  
президент Асоціації фармакологів України,  
член-кореспондент НАМН України,  
доктор медичних наук*

## **За сторінками журналу «WHO Pharmaceuticals Newsletter»**

### **Кодеин**

#### **Ограничение использования кодеина в качестве анальгетика у детей и подростков до 18 лет**

**Великобритания.** Медицинским агентством по лекарственным средствам и изделиям медицинского назначения Великобритании (MHRA) принято решение об ограничении использования кодеина в качестве анальгетика у детей и подростков до 18 лет. Основанием для принятия такого решения стал Европейский обзор по безопасности применения кодеина у детей, который был составлен в связи с зарегистрированными случаями редких, но опасных для жизни побочных реакций, в том числе смерти у детей, принимавших кодеин в качестве обезболивающего средства после тонзилэктомии, и/или аденоидэктомии. Известно, что кодеин превращается в печени в морфин при участии фермента CYP2D6, активность которого существенно отличается у различных индивидуумов. Это обуславливает индивидуальные отличия в выраженности как обезболивающего эффекта, так и развития непредсказуемых рисков развития побочных реакций. В связи с этим, MHRA рекомендует: Кодеин может использоваться для купирования острых болевых синдромов умеренной интенсивности у детей старше 12 лет и только в случаях, если не достигнуто адекватное обезболивание при использовании других анальгетиков (парацетамол или ибупрофен). Кодеин противопоказан: детям до 18 лет после тонзилэктомии, аденоидэктомии или обоих вмешательств из-за опасности развития обструктивного апноэ во сне; пациентам всех возрастных групп – сверхбыстрым метаболитам CYP2D6. Кодеин не рекомендуется для использования у детей с компрометированной дыхательной системой, нейромышечными расстройствами, тяжелыми нарушениями со стороны сердца, инфекциями верхних дыхательных путей и легких; политравмой или обширными хирургическими вмешательствами. При этих состояниях может возрастать токсичность морфина. У детей в возрасте от 12 до 18 лет максимальная суточная доза не должна превышать 240 мг, которая принимается в 4 приема с интервалом не менее 6 часов. Продолжительность применения не должна превышать 3 дня, и в случае отсутствия эффекта решение о продолжении приема кодеина принимает врач. Родителям и воспитателям описывают симптомы и признаки токсического действия морфина, а также предупреждают о необходимости прекратить прием препарата и немедленно информировать специалиста (врача) о развившихся у ребенка признаках и симптомах, которые включают: снижение сознания, сонливость, угнетение дыхания, точечные зрачки, отсутствие аппетита, запор, тошноту и рвоту. Кодеин не должны принимать кормящие матери из-за опасности его проникновения в организм ребенка с молоком матери.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 4–5.*

### **Диклофенак**

#### **Новые противопоказания и предосторожности (Общеввропейский обзор по безопасности для сердечно-сосудистой системы)**

**Великобритания.** MHRA сообщает, что имеются данные, свидетельствующие о том, что риски для сердечно-сосудистой системы, связанные с применением диклофенака, подобны таким, которые наблюдаются при использовании селективных ингибиторов COX-2. В настоящее время прием Диклофенака противопоказан при ишемической болезни сердца, заболеваниях периферических сосудов, нарушениях мозгового кровообращения и застойной сердечной недостаточности (NYHA, II-IV). Специалистам здравоохранения предложено использовать у пациентов с этими состояниями альтернативное лечение. Вышеизложенное распространяется на лекарственные формы для системного применения (таблетки, капсулы, суппозитории, инъекции), но не касается форм для местного применения (гели или кремы), содержащих диклофенак. Также рекомендуется начинать лечение диклофенаком только после тщательного рассмотрения факторов, сопряженных со значительными рисками для сердечно-сосудистой системы (гипертензия, гиперлипидемия, сахарный диабет, курение). Повышение риска сердечных атак и приступов, связанных с применением неселективных НПВС, таких как диклофенак, связано с длительным применением в высоких дозах. Эти предосторожности были включены в инструкцию для медицинского применения и Британский Национальный формуляр. Комитет по оценке рисков Европейского агентства по лекарствам в последнее время рекомендовал обновить инструкцию по применению диклофенака на основании общеевропейского обзора по безопасности НПВС для сердечно-сосудистой системы. В обзоре приведены новые доказательства того, что риск развития артериального тромбоза при использовании диклофенака подобен таковому при примене-

---

---

нии селективных ингибиторов COX-2. В Объединенном королевстве диклофенак разрешен для безрецептурного отпуска в низких дозах (до 75 мг в день) для краткосрочного (3 дня) использования. При безрецептурном отпуске диклофенака фармацевты должны предпринять следующие шаги: задать вопросы, исключающие использование диклофенака пациентами с установленными сердечно-сосудистыми заболеваниями и пациентами с высокими факторами риска развития реакций со стороны сердечно-сосудистой системы; предупредить пациента о том, что до обращения к врачу диклофенак можно принимать не более 3 дней; посоветовать пациенту не использовать одновременно несколько НПВС.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 5–6.*

### **Кетоконазол**

#### **Риск развития фатальной токсичности для печени**

**Канада.** Производители кетоконазола в содружестве с МЗ Канады пересмотрели Монографию продукта (PM) относительно риска потенциальной фатальной токсичности для печени. Кетоконазол ассоциируется с редкими случаями серьезной гепатотоксичности, включая печеночную недостаточность и смерть. Такой риск выявлен также у пациентов с отсутствием предшествующих заболеваний печени и других серьезных медицинских состояний. Гепатотоксичность и смерть были зарегистрированы при применении препарата в рекомендованных дозах и при продолжительности курса лечения, не превышающем 10 дней. В связи с этим был обновлен раздел Предосторожности PM следующими дополнительными инструкциями: таблетки кетоконазола предназначены для лечения серьезных или угрожающих жизни системных грибковых инфекций и не рекомендуются для применения при легкой и средней степени тяжести процесса; пероральный прием кетоконазола ассоциируется с токсическим поражением печени, включая случаи с фатальным исходом; у всех пациентов до начала лечения, на второй и четвертой неделе, а также ежемесячно после начала лечения должно быть проведено исследование функции печени. Лечение должно быть прекращено, если показатели повышены (более чем в 3 раза по сравнению с предельными значениями в норме), или если у пациентов развиваются клинические признаки или симптомы, свидетельствующие о поражении печени, такие как анорексия, тошнота, рвота, желтуха, усталость, боли в животе, темная моча или бледный стул. Врачам советуют учитывать риски фатальной токсичности кетоконазола при назначении противогрибковой терапии пациентам с известным риском проявления гепатотоксичности. Также рекомендуется проводить тщательный контроль пациентов, принимающих кетоконазол одновременно с другими потенциально гепатотоксическими препаратами, особенно при длительной терапии.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 7.*

### **Олмесартан медоксомил**

#### **Изменения в маркировке, включающие спру-подобную энтеропатию**

**США.** FDA (USA) предупреждает, что олмесартан медоксомил (Benicar®, Benicar HCT®, Azor®, Tribenzor® и их генерические аналоги) могут вызывать проблемы со стороны кишечника, известные как спру-подобная энтеропатия. Симптомы спру-подобной энтеропатии включают тяжелую хроническую диарею со значительным снижением массы тела. FDA одобрила соответствующие изменения в маркировку этих лекарств. Спру-подобная энтеропатия не зарегистрирована для других блокаторов рецепторов ангиотензина II (ARB). Олмесартан медоксомил – блокатор рецепторов ангиотензина II, одобренный для лечения повышенного артериального давления как в виде монотерапии, так и в сочетании с другими антигипертензивными препаратами. Рекомендовано профессионалам в области здравоохранения объяснить пациентам, получающим препараты, содержащие олмесартан, о необходимости связаться с ними при развитии тяжелой хронической диареи со снижением массы тела даже в тех случаях, если симптомы разовьются через месяцы или годы после приема препарата. Пациенты, принимающие препараты, содержащие олмесартан, должны немедленно связаться с лечащим врачом, если у них развились симптомы тяжелой диареи, если диарея не проходит или наблюдается значительное снижение массы тела.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 7.*

### **Ретигабин**

#### **Рекомендации по ограничению использования в связи с риском пигментации сетчатки**

**Европа.** CHMP рекомендует применять противозепилептический препарат ретигабин (Trobalт®) только пациентам, у которых другие противозепилептические средства оказались неэффективными или непереносимыми. Это ограничение использования препарата является результатом тщательной оценки случаев пигментации кожи, ногтей, губ и тканей глаз, включая сетчатку, у пациен-



---

---

тов, принимавших участие в длительных испытаниях. Ретигабин был авторизован как дополнительное лечение у взрослых с приступами парциальной эпилепсии. СНМР рекомендует пересмотреть назначения ретигабина у пациентов в пользу обычных (не urgentных) назначений. Должен быть переоценен баланс «польза-риск», и пациенты должны быть осведомлены о последней информации по безопасности. СНМР также рекомендует проведение комплексного исследования глаз до начала лечения (у новых пациентов) и, по крайней мере, каждые шесть месяцев в течение лечения. Если будут зарегистрированы пигментация сетчатки или видимые изменения, лечение данным препаратом может быть продолжено только после тщательной переоценки соотношения «польза-риск». В своей оценке СНМР принимает во внимание не только важность пигментации сетчатки, которая может привести к нарушениям зрения, но также и то, что неконтролируемая эпилепсия является серьезным состоянием, которое в отсутствие лечения угрожает жизни. СНМР пришел к заключению, что ретигабин остается ценной альтернативой у пациентов, у которых эпилепсия не может контролироваться другими противоэпилептическими препаратами.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 8.*

### **Варениклина тартрат и бупропиона гидрохлорид Пересмотр Монографии продукта как средства отказа от курения**

**Канада.** Pfizer Canada Inc. Valeant Canada LP совместно с Министерством здравоохранения Канады информировали о пересмотре Монографии (М) продуктов для лечения никотиновой зависимости варениклина тартрата (Champix®) и бупропиона гидрохлорида (Zyban®). Варениклина тартрат является средством медикаментозного лечения никотиновой зависимости. Бупропиона гидрохлорид – средство, способствующее снижению желания курить. Кроме того, бупропиона гидрохлорид показан для использования вместе с заместительной никотиновой терапией. Следующие ключевые моменты отражены в М для класса препаратов для лечения никотиновой зависимости: перед принятием решения о назначении варениклина гидротартрата и бупропиона гидрохлорида следует уделить внимание вариантам проведения заместительной никотиновой терапии; во многих случаях перед назначением данных препаратов проводится никотиновая заместительная терапия. Этот пересмотр М базируется на продолжающемся постмаркетинговом надзоре и механизмах действия препаратов, не содержащих никотин. Пересмотр М свидетельствует о важности обсуждения с пациентами потенциальной пользы и рисков, связанных с использованием препаратов для лечения никотиновой зависимости.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 8–9.*

### **Продукты, содержащие золпидем Снижение рекомендуемых доз**

**USA.** FDA (USA) одобрила изменения в маркировке, рекомендуемые новые дозы для препаратов, содержащих золпидем (Ambien®, Ambien CR®, Edluar® и Zolpimist™), которые часто прописываются в качестве снотворных средств. FDA одобрила режим применения препарата, согласно которому доза, принимаемая перед сном, должна быть снижена ввиду известного риска нарушений на следующее утро после приема препарата.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 9.*

### **Препараты, содержащие алмитрин Алмитрин для перорального применения отозван в Европейском Союзе**

**Европа.** Координационная группа по централизованным и децентрализованным процедурам регулирования лекарственных средств для человека (CMDh), представляющая страны-члены ЕС, поддержала рекомендации Комитета по оценке рисков (PRAC) Европейского агентства по лекарствам (EMA) об отзыве разрешения на маркетинг препаратов для перорального применения, содержащих алмитрин, в Евросоюзе. Рекомендации PRAC были одобрены на основе консенсуса CMDh, и теперь они будут имплементированы непосредственно в тех странах-членах, где препараты были разрешены. Алмитрин – стимулятор областей мозга, ответственных за дыхательные рефлексы. В Европейском Союзе он разрешен во Франции, Польше и Португалии в качестве перорального средства для лечения хронической дыхательной недостаточности (неспособность легких должным образом поглощать кислород и выводить углекислый газ), что приводит к гипоксемии (снижение уровня кислорода в крови по сравнению с нормой). Это является проблемой для пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями легких (COPD), у которых дыхательные пути и альвеолы повреждены или заблокированы.

Обзор по безопасности алмитрина для перорального применения был инициирован Французским агентством по лекарствам, Национальным агентством по безопасности лекарств и товаров для здоровья (ANSM) в связи с беспокойством относительно побочных эффектов, а также мнения, что имеющиеся данные не обосновывают применение препарата при лечении

---

хронических обструктивных заболеваний легких. PRAC пришло к выводу, что существует четкая связь между пероральным приемом алмитрина и потенциально серьезной и длительной периферической нейропатией (повреждение нервов верхних и нижних конечностей), значительной потерей массы тела и дальнейшим развитием слабости у пациентов. PRAC отметило, что сообщения продолжают поступать даже при соблюдении дополнительных мер предосторожности при использовании препарата. Более того, алмитрин для перорального применения не включен в международные руководства по лечению COPD. CMDh согласовала с PRAC заключение о том, что польза от применения алмитрина не превосходит риски от его применения, и считает, что препарат должен быть отозван с рынка в странах Евросоюза. Медицинским работникам даны следующие советы: необходимо пересмотреть лечение пациентов, уже принимающих алмитрин, и назначить им соответствующее альтернативное лечение; фармацевты должны направлять пациентов за новым или повторным рецептом к лечащему врачу; врачам, прописывающим лекарство, и фармацевтам следует направить письмо с информацией об отзыве с рынка алмитрина для перорального применения.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 4.*

### **Препараты, содержащие ципротерон и этинилэстрадиол Польза Diane 35 и ее генерических аналогов перевешивает риски в основной группе пациентов**

**Европа.** CMDh одобрила рекомендации PRAC EMEA, а именно, что польза от применения Diane 35 и ее генерических аналогов перевешивает риски при соблюдении ряда мер, направленных на минимизацию риска развития тромбозов. Эти препараты должны применяться исключительно для лечения умеренной или выраженной угревой сыпи, связанной с чувствительностью к андрогенам, или гирсутизма у женщин репродуктивного возраста. Кроме того, Diane 35 и ее генерические аналоги могут использоваться для лечения угревой сыпи только тогда, когда альтернативная терапия, например, местная терапия или лечение антибиотиками, не эффективна. Поскольку Diane 35 и ее генерические аналоги действуют как гормональные контрацептивы, женщины не должны принимать эти препараты в комбинации с другими гормональными контрацептивами. Совместное применение Diane 35 и ее генерических аналогов с другими гормональными контрацептивами подвергает женщину воздействию высоких доз эстрогенов и повышает риск тромбозов. Риск развития тромбозов, возникающий при применении данных препаратов, не высок и хорошо известен. Однако для минимизации этого риска в обновленную информацию о продукте необходимо включить дополнительные меры. Они включают предоставление обучающих материалов врачам и пациентам, в которых подчеркивается риск развития тромбозов, например, контрольный список с описанием признаков и симптомов для обсуждения с пациентом. Обзор по Diane 35 и ее генерическим аналогам был инициирован Французским агентством по лекарствам, ANSM, после принятия решения о приостановке маркетингового разрешения Diane 35 и ее генерических аналогов во Франции в течение 3 месяцев. Этот обзор подчеркнул серьезность случаев тромбозов, а также широкое использование этих препаратов в качестве контрацептивов, что не входит в утвержденные показания по применению этих препаратов. Несмотря на рекомендации PRAC, ANSM возобновил действие торговой лицензии этих препаратов во Франции. Как только Европейская Комиссия примет решение, все государства-члены ЕС, где Diane 35 и ее генерические аналоги были зарегистрированы, должны будут принять меры, направленные на снижение рисков, включая изменения в информацию для врачей и пациентов.

*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 5.*

### **Внутривенные инфузии гидроксипроксиэтилкрахмала Приостановка лицензий в Великобритании и новые предупреждения в США**

**Великобритания (1).** Регуляторное Агентство по лекарственным средствам и продуктам для здравоохранения (MHRA) объявило, что лицензии на продукты, содержащие гидроксипроксиэтилкрахмал (HES), приостановлены. Продукты, содержащие HES, являются синтетическими коллоидными растворами, используемыми для увеличения объема плазмы при ряде клинических состояний. На рынке Великобритании есть следующие продукты, содержащие HES: Volulite®, Tetraspan®, Venofundin®, Voluven®. Европейский комитет по оценке рисков побочных реакций рассмотрел соотношение «Польза-риск» при использовании препаратов, содержащих HES, у пациентов различных групп. Комитет пришел к заключению, что существуют четкие указания на нанесенный вред при использовании данных препаратов для восполнения жидкости и на отсутствие доказательств большей пользы от их применения в сравнении с кристаллоидными растворами. Риски при применении продуктов, содержащих HES, превышают пользу во всех клинических ситуациях. Хотя формальные процедуры регуляторных органов ЕС не завершены, Комиссией по лекарственным препаратам для человека принято предварительное решение о приостановке действия торговых лицензий и использования препаратов на основе HES в Великобритании. Профсоюзом здравоохранения сообщается следующее: имеются явные свидетельства вреда от применения

---

---

HES вследствие усиления почечной дисфункции и смертности, и общие риски от использования превышают пользу; отсутствуют свидетельства, что инфузии раствора HES для восстановления объема плазмы дают дополнительную релевантную клиническую пользу в сравнении с кристаллоидами при некоторых показаниях; HES не должен использоваться для увеличения объема плазмы. Для альтернативного восстановления жидкости необходимо выбирать препараты согласно клиническим протоколам; отозвать все имеющиеся запасы HES.

**USA (2).** FDA пришла к выводу, что растворы гидроксипроксиэтилкрахмала (HES) не должны использоваться у тяжелобольных взрослых пациентов, в частности с сепсисом, и у других пациентов, находящихся в отделениях интенсивной терапии. В дополнение, FDA провела мета-анализ исследований, проведенных у пациентов при операциях на открытом сердце с искусственным кровообращением и заключила, что в раздел Предупреждения и меры предосторожности вкладыша в упаковку необходимо включить дополнительные предупреждения об опасности чрезмерного кровотечения. Растворы HES используются при гиповолемии, когда желательно увеличить объем плазмы. Последние данные об использовании этих препаратов ассоциируются с повышением риска развития тяжелых побочных реакций у основной популяции пациентов. В США рекомендации для профессионалов включают следующее: не использовать растворы HES у тяжелобольных взрослых пациентов, включая таковых с сепсисом и тех, кто находится в отделениях интенсивной терапии; избегать использования у пациентов с ранее перенесенными заболеваниями почек; прекратить использование HES при первых признаках повреждения почек; проводить мониторинг почечной функции в последующие 90 дней после применения HES у всех пациентов; избегать использования HES при проведении операций на открытом сердце с искусственным кровообращением в связи с опасностью кровотечения; прекращать использование HES при первых признаках коагулопатий.

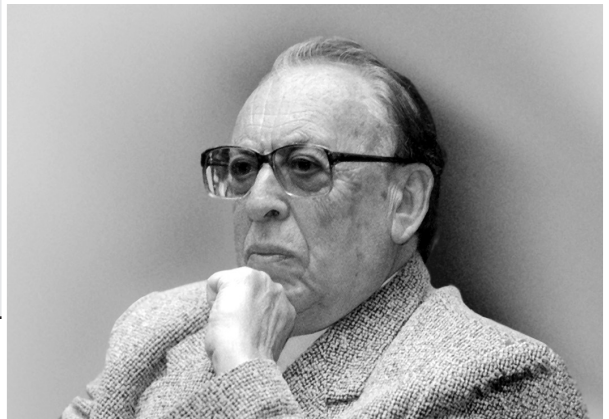
*Литература: WHO Pharmaceuticals Newsletter. – 2013. – № 4. – P. 6–7.*

---

**Составители:** доктор медицинских наук *Т. А. Бухтиарова*,  
кандидат медицинских наук *Т. К. Ефимцева*

## ІСААК МИХАЙЛОВИЧ ТРАХТЕНБЕРГ

**Академік НАМН України,  
член-кореспондент НАН  
України,  
заслужений діяч науки  
України,  
лауреат Державної премії  
в галузі науки і техніки**



11 листопада виповнюється 90 років з дня народження і 65 років наукової, педагогічної й громадської діяльності видатного українського вченого в галузі медицини праці та профілактичної токсикології, академіка НАМН України, члена-кореспондента НАН України, заслуженого діяча науки України, лауреата Державної премії в галузі науки і техніки Ісаака Михайловича Трахтенберга.

Випускник Київського медичного інституту перших повоєнних років І. М. Трахтенберг розпочав свою науково-дослідницьку та педагогічну діяльність на кафедрі гігієни праці цього самого інституту. Тут він починає працювати асистентом, а згодом доцентом кафедри гігієни праці. Під керівництвом відомого гігієніста академіка АМН СРСР Л. І. Медведя молодий науковець розпочав експериментальні розробки, присвячені токсикології органічних сполук ртуті – етилмеркурфосфату та етилмеркурхлориду. Результати цих досліджень згодом узагальнені в кандидатській дисертації «К токсикологии органических соединений ртути – этилмеркурфосфата и этилмеркурхлорида», яка була захищена в 1950 році, а вже в 1964 році І. М. Трахтенберг успішно захищає докторську дисертацію на тему «Микромеркуриализм как гигиеническая проблема», обирається на посаду професора кафедри, а в 1966 році йому присвоєно вчене звання професора. Науково-дослідницьку роботу в ці та подальші роки Ісаак Михайлович поед-

нує з викладацькою діяльністю в стінах Київського медичного інституту імені академіка О. О. Богомольця.

Розробка проблем впливу на організм екзогенних чинників малої інтенсивності стала одним з основних напрямів наукових досліджень І. М. Трахтенберга. За його ініціативою виходить колективна праця під назвою «Вопросы промышленной и сельскохозяйственной токсикологии» (1964 р.). Наприкінці шестидесятих років минулого століття виходить монографія І. М. Трахтенберга «Хроническое воздействие ртути на организм» (1969 р.), яка отримала широке визнання фахівців як в Україні, так і поза її межами.

І. М. Трахтенберг одним з перших вітчизняних гігієністів і токсикологів розпочинає гігієнічні дослідження полімерів. Ці дослідження узагальнені в колективній монографії за його редакцією «Токсикологическая оценка летучих веществ, выделяющихся из синтетических материалов». Він також проводить дослідження з питань фізіології розумової праці, вивчення механізму «сеченівського феномена», взаємозв'язку втоми та відновлення. За підсумками проведених досліджень опубліковано низку наукових робіт, у 1970 році в співавторстві з членом-кореспондентом АМН СРСР Г. Х. Шахбазяном виходить підручник «Гигиена умственного труда», а в 1971 році – монографія «Гигиена умственного труда».

У 1972 році І. М. Трахтенберг переходить на науково-дослідницьку роботу в Київський НДІ гігієни праці і профзахворювань МОЗ України (нині ДУ «Інститут медицини праці НАМН України»). Увесь подальший науковий шлях вченого пов'язаний з цією відомою установою. Тут було організовано лабораторію промислової токсикології і гігієни праці при використанні хімічних речовин, яку очолив Ісаак Михайлович. Колектив цієї лабораторії під його керівництвом вже понад 40 років успішно розробляє актуальні проблеми медицини праці, профілактичної токсикології, медичної екології. Слід відзначити, що в діяльності лабораторії з самого початку був закладений принцип органічного поєднання постановки експерименту на тваринах з гігієнічними спостереженнями безпосередньо за умов виробництва.

Працюючи в Інституті, І. М. Трахтенберг продовжив експериментально-токсикологічні і клініко-гігієнічні розробки проблеми «ртутної небезпеки». Результати цих багаторічних досліджень узагальнені в значній кількості публікацій, а також у монографії «Ртуть и ее соединения в окружающей среде» (1990 р.). У подальшому наукові інтереси Ісаака Михайловича та очолюваного ним колективу були зосереджені на вивченні впливу на організм інших важких металів – свинцю, кадмію, кобальту, хрому, міді, а згодом на перший план вийшли питання комбінованої дії важких металів і радіації.

З ім'ям І. М. Трахтенберга пов'язане також коло питань з розробки проблеми норми в профілактичній токсикології. Результати цих досліджень опубліковано в наукових монографіях, одна з яких – «Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте» (1978 р.). Книга була пізніше видана також за кордоном (1984 р.). Розвитком цього наукового напрямку стала колективна монографія, що вийшла за редакцією І. М. Трахтенберга – «Основные показатели физиологической нормы человека» (2001 р.).

У 1980–1990 роках І. М. Трахтенбергом опубліковано понад 400

робіт, у тому числі 20 монографій та посібників. Серед них: «Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей» (1987 р.), «Химические факторы производственной среды и сердечно-сосудистая система» (1992 р.), «Тяжелые металлы во внешней среде: гигиенические и экологические аспекты» (1995 р.).

За ініціативою Ісаака Михайловича протягом останніх десяти років активно розробляється проблема вікової токсикології, зокрема, дія малих доз хімічних речовин і реакції на них організму залежно від віку. Результати експериментальних досліджень за цією проблемою знайшли відображення в колективних монографіях «Нариси вікової токсикології», що вийшла українською та російською мовами (2005 р., 2006 р.) та «Очерки физиологии и гигиены труда пожилого человека» (2007 р.), у якій розглядаються вікові аспекти гігієни праці.

Паралельно з традиційними експериментальними дослідженнями І. М. Трахтенберг та його співробітники проводять пошук і розробку альтернативних методів і тест-систем для вивчення токсичності ксенобіотиків. Цій проблемі присвячено монографію «Лікарська токсикологія. Альтернативні методи і тест-системи», що вийшла в світ за його редакцією в 2008 році.

Останніми роками під керівництвом Ісаака Михайловича розпочалися дослідження у новій галузі – нанотоксикології.

Протягом багатьох років Ісаак Михайлович плідно співпрацює з токсикологами та фармакологами, гігієністами та екологами, успішно готує наукові кадри. Під керівництвом академіка НАМН України І. М. Трахтенберга підготовлено і захищено понад 50 дисертаційних робіт.

Вагомою є багаторічна науково-організаційна робота. На І. М. Трахтенберга в різні роки були покладені обов'язки головного позаштатного фахівця з профілактичної токсикології МОЗ України, голови комісії з науки Правління Українського наукового товариства гігієністів, члена спеціалізованих рад



---

---

із захисту дисертацій при Інституті медицини праці НАМНУ та Інституті фармакології і токсикології НАМНУ, члена редколегій і редакційних рад низки міжнародних і вітчизняних періодичних видань. Він також бере активну участь у роботі Комітету з питань гігієнічної регламентації МОЗ України, Державного експертного центру МОЗ України.

Ісаак Михайлович – високоінтелектуальна і ерудована людина. На рубежі тисячоліть розкрився його літературний талант у жанрі наукової публіцистики і мемуаристики. Широкої відомості набула трилогія «Запоздалые заметки» (2000 р., 2001 р., 2002 р.). На сторінках мемуарних нотаток читач зустрічається з видатними діячами вітчизняної медицини, інших галузей науки. Продовженням його спогадів про події далекі, нещодавні та сучасні, про друзів, рідних та колег є видання «Остановиться, оглядеться...» (2008 р.). У ньому – роздуми автора про життя, науковий шлях, політику і суспільство, уроки минулого, реалії сьогодення, надії на майбутнє. Добре відомі численні виступи Ісаака Михайловича на сторінках періодичних громадсько-політичних видань, що присвячені гострим проблемам сучасного життя, пробле-

мам організації науки та підготовки наукових кадрів, вихованню молоді на прикладах життя видатних діячів медичної науки і охорони здоров'я. Ісаак Михайлович очолює Клуб творчої інтелігенції імені академіка В. В. Фролькіса. Активна діяльність клубу сьогодні – це світла пам'ять і данина своєму товаришеві, видатному вченому – фізіологу і геронтологу Володимирі Веніаміновичу Фролькісу.

Викликає захоплення, що академік І. М. Трахтенберг зустрічає славетний ювілей, сповнений творчих планів і задумів, та, як завжди, продовжує багато працювати.

Колеги та друзі вітають Вас, вельмишановний Ісааке Михайловичу, з визначним ювілеєм, шанують як видатного вченого, учителя, людину глибоких та різносторонніх знань, непересічного інтелекту та таланту спілкування.

Бажаємо Вам міцного здоров'я, довгих років життя та творчої наснаги.

*ВГО «Асоціація фармакологів України»  
ДУ «Інститут фармакології та  
токсикології НАМН України»  
Редколегія журналу «Фармакологія  
та лікарська токсикологія»*

## АКАДЕМІКУ М. М. АМОСОВУ – 100 років

Микола Михайлович Амосов – вірець гуманізму й високої моралі, видатний кардіохірург, дослідник, учений, філософ, письменник, суспільний діяч, популяризатор науки і здорового способу життя. Засновник української кардіохірургії й біокібернетики. Автор новаторських методик наукового пізнання фундаментальних основ розвитку суспільства, біологічних систем, особистості людини, медицини і здорового способу життя, кардіоторакальної хірургії.

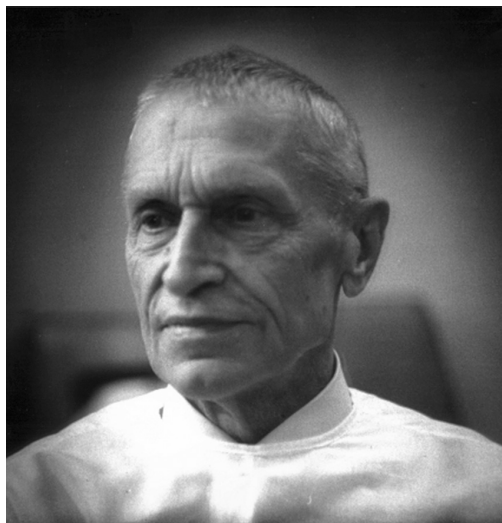
М. М. Амосов – автор багатьох популярних книг про здоров'я. Людина, яка поставила на собі «експеримент з омолодження». Видатний дослідник із різноманітними інтересами, М. М. Амосов одним з перших усвідомив необхідність союзу медицини з точними науками і створив перший в країні відділ біокібернетики.

Намагаючись осмислити весь свій життєвий досвід, він розробив не тільки модель серця й внутрішньої сфери людини, але й модель особистості, модель суспільства. Усе життя М. М. Амосов покладався на свій власний досвід, як справжній учений піддавав будь-яке твердження сумніву. Лише перевіривши те чи інше положення експериментальним шляхом, часто на своєму власному досвіді, Микола Михайлович міг із впевненістю сказати: «Згоден, це так».

Амосов завжди йшов до істини власним шляхом, покладаючись на свій розум, оптимізм, обов'язок лікаря і громадянина, любов до людей.

Присвятивши свою діяльність медицині, видатний кардіохірург Микола Амосов застерігав від надмірної віри в неї. Він критично ставився до її догм, головна з яких – усі хворі, навіть якщо цього поки що не знають. Амосов вчив, що здоров'я потрібно добувати самому за допомогою обмежень і навантажень.

Символ епохи, легенда вітчизняної науки, знаний філософ, політик, про-



заїк, Микола Михайлович Амосов залишився кумиром для сотень своїх учнів, рятівником для тисяч пацієнтів та ідеалом для прихильників його великої волі й таланту.

Є відомі вчені, є мислителі, а є – Амосов... Його ім'я стало символом найвищих людських якостей і різнобічного таланту.

М. М. Амосов народився 6 грудня 1913 року в селі Вільхове, нині М'якінського району Вологодської області, у сім'ї службовця. У 1932 році він закінчив Череповецький механічний технікум, після чого 3 роки працював змінним механіком на Архангельській електростанції. У 1934 році юнак вступив до Всесоюзного заочного індустріального інституту (ВЗІІ) у Москві. Поряд із захопленням технікою, цікавився медициною, тому в 1935 році вступив до Архангельського державного медичного інституту, який з відзнакою закінчив у 1939 році. Здібного випускника прийняли до аспірантури з військово-польової хірургії, але він залишив її, поїхавши до Череповця, де став працювати ординатором хірургічного відділення міжрайонної лікарні. У вільний час готувався до захисту диплома у ВЗІІ, проєктуючи літак з турбопаровим двигу-

ном. ВЗІІ Амосов закінчив у 1940 році теж з відзнакою. У 1941 році він був призваний до лав Червоної Армії. Протягом усієї Великої Вітчизняної війни служив провідним хірургом у польових рухомих шпиталях на Західному, Брянському, 1, 2 і 3 Білоруських фронтах, а також на 1 Далекосхідному фронті (1945 р.). За час війни М. М. Амосов зібрав матеріал для кандидатської дисертації на тему «Про поранення колінного суглоба», яку захистив у місті Горькому (нині Нижній Новгород) у 1948 році. У 1947–1952 роках він працював головним хірургом Брянського обласного відділу охорони здоров'я і водночас завідував хірургічним відділенням обласної лікарні. Тут, поряд з іншими розділами хірургії, М. М. Амосов цілеспрямовано й захоплено займався проблемами грудної хірургії, на той час ще мало розробленими в нашій країні. Він широко й успішно оперував при хірургічних та онкологічних ураженнях легень, стравоходу, кардіального відділу шлунка. Результати його операцій були одними з найкращих у Радянському Союзі.

Миколу Михайловича було запрошено до Київського інституту туберкульозу та грудної хірургії імені Ф. Г. Яновського для керівництва спеціально створеною клінікою торакальної (грудної) хірургії. Тут з особливою повнотою розкрився його різнобічний талант хірурга і дослідника, фізіолога та інженера, стала особливо плідною наукова, організаторська, педагогічна та громадська діяльність.

У 1953 році він захистив докторську дисертацію «Пневмонектомії і резекції легень при туберкульозі». У 1955 році він уперше в Україні почав займатися лікуванням вад серця. Разом зі своїми співробітниками він створив надійний, придатний для широкого використання апарат штучного кровообігу «серце-легені» і впровадив його в практику одним з перших у СРСР. У 1955 році М. М. Амосов заснував і очолив першу в Радянському Союзі кафедру грудної хірургії для вдосконалення лікарів, з якої пізніше виділили кафедру анестезіології.

У 1961 році М. М. Амосову була присуджена Ленінська премія, він був обраний членом-кореспондентом АМН СРСР.

Одним з основних напрямів науково-практичної діяльності М. М. Амосова виявилось хірургічне лікування захворювань серця. У 1963 році М. М. Амосов першим у Радянському Союзі здійснив протезування мітрального клапану серця, а у 1965 році створив і вперше в світі впровадив у практику антитромботичні протези серцевих клапанів.

У 1960 році, уже відомий хірург, Микола Михайлович заснував і очолив відділ біологічної кібернетики в Інституті кібернетики Академії наук УРСР. Під його керівництвом проведені фундаментальні дослідження систем саморегулювання серця, здійснена розробка та побудова фізіологічної моделі «внутрішнього середовища організму» людини, моделювання на ЕОМ основних психічних функцій і деяких соціально-психологічних механізмів поведінки людини. Майбутнє медицини вчений пов'язував з досягненнями суміжних наук – біології, фізики, хімії, кібернетики. Остання, за його переконанням, повинна поставити медицину в ряд найбільш точних наук. Головне завдання медицини майбутнього Амосов бачив у знаходженні шляхів штучного регулювання організму, у приведенні його у відповідність із заданою програмою. Мрією вченого було створення штучного розуму. За дослідження в області біо-кібернетики в 1978 році Микола Михайлович був удостоєний Державної премії УРСР.

У 1983 році клініка серцево-судинної хірургії Київського НДІ туберкульозу і грудної хірургії була реорганізована в Київський НДІ серцево-судинної хірургії МОЗ УРСР. М. М. Амосов з 1968 року обіймав посаду заступника директора, згодом став директором новоутвореного інституту і працював на цій посаді до 1989 року. Хірург і вчений М. М. Амосов розкрився, свого часу, як талановитий письменник, опублікувавши в 1964 році свою першу повість «Думки і серце». Кри-

---

---

тики повсюдно високо оцінили книгу, її художні цінності, лаконічний стиль, достовірність, високий інтелектуальний рівень твору, яскраво виражену громадянську позицію автора. Книга була перекладена на різні мови і видана в 28 країнах світу. За нею послідував ряд інших літературних творів: «Записки з майбутнього», «ППГ-2266», «Книга про щастя і нещастя» та інші, які неодноразово видавалися у нас в країні та за кордоном. У 1974 році М. М. Амосова було прийнято до Спілки радянських письменників.

У багатогранній діяльності Миколи Михайловича велике місце відводилось громадській роботі. Він був депутатом Верховної Ради СРСР п'яти скликань. До своїх обов'язків народного депутата він відносився з великою відповідальністю.

Говорячи про Миколу Михайловича, необхідно торкнутись ще однієї складової його різноманітної діяльності. Мова йде про публіцистику. Тут він проявив видатні здібності, сміливість щодо оцінки ситуації в СРСР і в питаннях подолання негативних явищ, яких було немало. Багато його виступів виходили за межі можливої на той час відвертої критики суспільства і користувались великим успіхом. Він

був чудовим лектором і збирав великі аудиторії.

Академік М. М. Амосов – творець школи кардіохірургів в Україні. Під його керівництвом захищено 35 докторських і 85 кандидатських дисертацій. Він автор понад 500 наукових праць, у тому числі 20 монографій з питань захворювань серця і судин, гнійних захворювань і туберкульозу легенів, проблем біологічної, медичної та психологічної кібернетики.

Микола Михайлович Амосов помер 12 грудня 2002 року на 90 році життя. Постановою Кабінету Міністрів України Інституту серцево-судинної хірургії Академії медичних наук України присвоєно ім'я академіка Миколи Михайловича Амосова. Його іменем названа вулиця, на якій знаходиться Інститут, встановлено меморіальні дошки на будинках, де він працював і мешкав. У 2000 році він увійшов у першу десятку особистостей, які визначили вигляд країни у ХХ столітті, а у 2008 році співвітчизники надали йому друге місце серед 100 великих українців.

Головне – це світла пам'ять про академіка М. М. Амосова, яка назавжди залишиться в серцях його учнів, співробітників, багатьох тисяч врятованих ним хворих, усіх, хто мав щастя зустрітись з цією видатною людиною.

# До 50-річчя науково-педагогічної діяльності завідувача кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця Івана Сергійовича Чекмана

Іван Сергійович Чекман (нар. 4.10.1936) у 1961 році закінчив Тернопільський медичний інститут. Занесений у золоту книгу випускників цього інституту. Направлений на практичну роботу. У 1961–1962 роках – головний лікар Лонковецької, у 1962–1963 – Кирилівської дільничних лікарень Волочиського району Хмельницької області; у 1963–1966 – аспірант; у 1966–1970 – асистент; у 1970–1972 – доцент; із 1972 року – завідувач кафедри фармакології (із 1982 року фармакології та клінічної фармакології) Київського медичного інституту імені О. О. Богомольця. У 1987–1991 роках – директор Київського науково-дослідного інституту фармакології та токсикології НАМН України. І. С. Чекман – член-кореспондент Національної академії наук України (1991 р.), член-кореспондент Національної академії медичних наук України (1993 р.), доктор медичних наук (1973 р.), професор (1976 р.), лауреат Державної премії (1986 р.), заслужений діяч науки і техніки (1999 р.), академік Нью-Йоркської академії наук. Нагороджений – орденом «Знак пошани», Почесною грамотою Кабінету Міністрів України, Почесною грамотою Київського міського голови.

І. С. Чекман збагатив науку досягненнями першочергового значення в області фармакології та клінічної фармакології у таких напрямках.

## 1. Загальна фармакологія

Уперше експериментально встановлено, що в розвитку первинної фармакологічної реакції основне значення має властивість ліків утворювати комп-

лекси з біолігандами (альбумін, амінокислоти, ліпіди, вуглеводи) і біометалами (кальцій, магній, мідь та ін.), нікотинамідом, аденіновими нуклеотидами (АТФ, АДФ, АМФ). Перспективність цього наукового напрямку знайшла підтвердження в дослідженнях з фармакології кардіотонічних засобів – вперше встановлено, що серцеві глікозиди мають властивість утворювати лабільні комплекси з кальцієм. На основі встановленої теоретичної закономірності здійснено синтез кардіотоніків нестероїдної структури (суфан, карбіцил, глюкамакс). Уперше у вітчизняній практиці в 1986 році розроблено методичні рекомендації з доклінічного вивчення нових кардіотонічних засобів, затверджених МОЗ СРСР, які були вдосконалені й затверджені МОЗ України в 2000 році. Результати цих досліджень узагальнені в монографіях: «Биологические аспекты координационной химии» (1979 р.); «Физическая химия и клиническая фармакология сердечных гликозидов» (1985 р.); «Магний в медицине» (1992 р.); «Магний-місні препарати: фармакологічні властивості, застосування» (2007 р.); «Кардиотонические стероиды» (2009 р.).

## 2. Біохімічна фармакологія

Вивчено механізм дії серцево-судинних препаратів (серцевих глікозидів, адреноблокаторів, органічних нітратів, симпатолітиків та ін.), їхню взаємодію з метаболітними засобами, особливості впливу лікарських засобів при різних патологічних станах: серцевій недостатності, артеріальній гіпертензії, коронарному спазмі, атеро-



склерозі, різних за етіологією гіпоксіях, алкогольній і доксорубіциновій кардіоміопатії, адреналіновому й теофіліновому міокардиті. Результати цих досліджень на органному, клітинному й субклітинному рівнях дозволили встановити нові дані про біохімічні механізми первинного фармакологічного ефекту серцевих глікозидів, серцево-судинних засобів, метаболічних препаратів, ангіопротекторів, антидотів (унітіол, дипіроксим, алоксим). Результати цих досліджень узагальнені в наступних монографіях: «Биохимическая фармакодинамика» (1990 р.); «Микросомальная ферментная система организма» (1996 р.); «Очерки фармакологии средств метаболической терапии» (2001 р.); «Кардиопротекторы» (2005 р.); «Тиотриазолин» (2005 р.); «Никотинамид» (2008 р.); «Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио- и органопротекции» (2009 р.).

### 3. Квантова фармакологія

Проведено дослідження з встановлення просторової будови та електронної структури молекул лікарських засобів різних фармакологічних груп, зв'язку між їхньою хімічною структурою та фармакологічною активністю (QSAR), визначення фармакофорів лікарських засобів, розробка *de novo* дизайну медикаментів для лікування різних захворювань, прогнозування фармакологічної активності лікарських засобів. У видавництві «Наукова думка» у 2013 році видана монографія «Квантова фармакологія».

### 4. Нанофармакологія

Останніми роками розпочато дослідження з нанофармакології. Завдяки підтримці президента НАН України академіка Б. Є. Патона та ректора Національного медичного університету імені О. О. Богомольця академіка НАМН України В. Ф. Москаленка в січні 2008 року була створена спільна лабораторія «Електронно-променеві нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини» з розробки нових нано-

препаратів. Встановлено, що оксидам наноміди та наносрібла притаманні більш виражені протимікробні властивості, ніж оксидам даних металів звичайних розмірів. Розроблено також нову лікарську форму на основі нанодисперсного кремнезему – суспензію нанодисперсного кремнезему, яка сприяє зменшенню токсичності таких сполук, як натрію фторид і натрію нітрит, а також протитуберкульозних препаратів, а саме: ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу. Результати проведених досліджень узагальнені в монографіях: «Нанофармакологія» (2011 р.); «Основи наномедицини» (2011 р.); «Нанонаука, нанобіологія, нанофармація» (2012 р.); «Природні наноструктури та наномеханізми» (2012 р.); а також у виданні «Англо-український словник-довідник з нанонауки» (2013 р.).

Дослідження з нанофармакології проводяться разом з закладами НАН та НАМН України. Результатами проведених спільних досліджень уперше у світі встановлені нові наукові факти та розроблені лікарські форми (мазь, гель, капсули, суспензія, очні краплі) наносрібла, наноміди, нанозаліза, нанодисперсного кремнезему.

### 5. Клінічна фармакологія

Проведено дослідження з клінічної фармакології. У 1982 році вперше в Україні організовано викладання клінічної фармакології студентам Київського медичного інституту імені О. О. Богомольця. Наукові дослідження з клінічної фармакології, що спрямовані на розробку раціональних схем лікування різних захворювань і попередження побічної дії лікарських засобів, узагальнені в монографії «Осложнения фармакотерапии» (1980 р.). Уперше у 1986 році було видано довідник «Справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии», що витримав 2 видання, довідник «Рецептурный справочник врача», що витримав 8 видань загальним тиражем 1 млн 300 тисяч екземплярів і вже багато років є настільною книгою лікарів різних спеціальностей. У довіднику «Рецептурный справочник

врача ендокринолога» (1990 р.) узагальнено клініко-фармакологічні властивості лікарських засобів, що застосовуються в ендокринології. У монографії «Нестероїдні протизапальні препарати: ефективність, доступність і прийнятність для пацієнта» (2011 р.) викладені клініко-фармакологічні властивості даної групи препаратів.

Теоретичні основи механізму дії лікарських засобів, встановлені І. С. Чекманом, є основою для призначення цих медикаментів у клінічній практиці. Так, для зменшення токсичного впливу серцевих глікозидів і неглікозидних кардіотоніків при серцевій недостатності запропонований токоферол, рибофлавін, фосфаден, таурин, ацетилцистеїн, убіхінон, ентеросорбенти. Метаболітні препарати (нікотинамід, кверцетин, тіотриазолін, АТФ-лонг, яктон) попереджують розвиток доксорубіцинової кардіоміопатії.

Досліджено різні аспекти педіатричної клінічної фармакології, зокрема, адреноміметиків, адреноблокаторів, серцевих глікозидів, метаболітних, ферментних та імунотропних препаратів. Експериментальні дослідження, а також плідна співпраця з кафедрами педіатрії університету дозволили розробити рекомендації з раціонального застосування цих препаратів для лікування хворих дітей. Результати проведених досліджень знайшли своє відображення в монографіях: «Неотложная помощь в педиатрии» (1976 р.); «Врачебная рецептура в педиатрической практике. Принципы дозирования лекарств детям», в книгах «Фармакотерапия в педиатрии» (1980 р.), «Фармакология кардиоактивных средств в раннем онтогенезе» (1982 р.).

## 6. Фітофармакологія

У наукових дослідженнях значну увагу приділено вивченню фармакологічних властивостей препаратів рослинного походження. Співпраця з Центральним ботанічним садом НАН України дозволила вперше встановити важливий науковий факт, що ефір-

ні масла рослин мають властивість утворювати комплекси з токсичними хімічними речовинами та виводити їх з організму, призводячи до його детоксикації. На цій основі було розроблено композиції ефірних масел рослин і запропоновано для застосування в клінічній практиці. Результати досліджень узагальнені в монографіях з фітотерапії: «Растительные лекарственные средства» (1983 р.); «Рецепты сборов лекарственных растений. Нетрадиционные методы лечения» (1992 р.); «Клінічна фітотерапія» (два видання). Спільно з співробітниками Національного технічного університету «Київська політехніка» отримано оригінальний препарат рослинного походження «Карбюлоза», що виводить радіонукліди, солі важких металів і нітрати з організму. Карбюлоза рекомендована МОЗ України для широкого застосування в клінічній практиці.

Дослідженнями кафедри фармакології та клінічної фармакології та Інституту геронтології НАМН України встановлені фармакологічні властивості водорості спіруліни. Препарат «Спіруліна» рекомендований для застосування в клінічній практиці. Спільно з співробітниками Інституту фармакології і токсикології НАМН України та Житомирським науководослідним інститутом хмільництва розроблено препарат «Корвалдин», який широко застосовується в медичній практиці. Останніми роками отримано й впроваджено в медичну практику комбіновані рослинні препарати «Кораргін», «Ладостим», «Кардіолік». Розроблені препарати рослинного походження «Гермогран» і «Леворкс» застосовуються для лікування хронічних отруєнь, у тому числі в осіб, що постраждали внаслідок аварії на Чорнобильській атомній станції. Результати цих досліджень узагальнено в монографіях: «Фитонциды в эргономике» (1986 р.); «Фитонциды в медицине» (1990 р.); «Екологічна фармакологія» (2000 р.); «Спіруліна и здоровье» (2000 р.).

---

---

## 7. Радіаційна фармакологія

Дослідження з дозволили не тільки відкрити нові механізми дії протонного випромінювання, але запропонувати ефективний засіб зменшення негативного впливу цього зовнішнього фактора. За отримані результати цієї роботи І. С. Чекман у 1986 році отримав Державну премію України.

Професор І. С. Чекман автор і співавтор більше 1000 наукових праць, у тому числі 77 монографій, довідників, підручників, посібників, словників, 12 методичних рекомендацій, 56 патентів. Підготував 20 докторів і 35 кандидатів наук. Постійно виступає з науковими доповідями на міжнародних конгресах, конференціях і симпозіумах.

Виконує велику науково-організаційну роботу. Член президії Асоціації фармакологів України, Міжнародної асоціації з клінічної фармакології, член редколегії 7 наукових журналів та двох медичних газет, 2 спеціалізованих Вчених рад по захисту кандидатських і докторських дисертацій та Державного експертного центру МОЗ України. Веде активну просвітницьку діяльність, часто виступає по радіо та телебаченню, друкує статті в газетах.

Такі підсумки 50 років роботи Івана Сергійовича Чекмана у Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця, з них 41 рік – завідувачем кафедри.

## Светлой памяти ученого и педагога Виктора Владимировича Дунаева



Ректорат Запорожского медицинского университета и Ассоциация фармакологов Украины с глубоким прискорбием сообщают, что 10 сентября 2013 года на 76 году жизни после продолжительной болезни ушел из жизни бывший проректор по научной работе Запорожского государственного университета, заслуженный деятель науки и техники Украины, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и медицинской рецептуры Виктор Владимирович Дунаев.

В. В. Дунаев родился 22 ноября 1937 года в Рязани в семье служащих. В 1961 году окончил Рязанский медицинский институт имени академика И. П. Павлова и был направлен в аспирантуру по специальности «Экспериментальная терапия» в Институт биофизики МЗ СССР (г. Москва). Успешно выполнил и защитил в 1965 году кандидатскую диссертацию под руководством академика АМН СССР В. А. Санюцкого. После окончания аспирантуры рабо-

тал ассистентом, с 1971 года – доцентом, с 1979 года – профессором кафедры фармакологии Рязанского медицинского института.

В 1977 году Виктор Владимирович защитил докторскую диссертацию «Механизмы действия цитостатических средств и методы оценки их терапевтической активности». Его научным консультантом был заслуженный деятель науки и техники СССР профессор А. А. Никулин. С 1981 по 2004 годы В. В. Дунаев был заведующим кафедрой фармакологии и медицинской рецептуры, а с 1983 по 2003 годы – проректором по научной работе Запорожского государственного медицинского университета.

Основное направление научно-исследовательской работы В. В. Дунаева было посвящено изучению фармакокинетических и фармакодинамических свойств различных групп лекарственных средств в условиях моделирования таких патологических процессов, как инкорпорированная лучевая

---

---

болезнь, опухолевый рост, эндокринная патология, воздействие на организм ультрафиолетового, гелий-неонового излучения и магнитного поля. С 1981 года он сформировал научное направление по разработке и созданию новых высокоэффективных кардиопротективных, нейропротективных, противоишемических, антиоксидантных и метаболитотропных препаратов.

По инициативе Виктора Владимировича и при его активном участии в Университете была организована Центральная научно-исследовательская лаборатория, в которой проводятся работы по созданию новых лекарственных препаратов. Проведенные фундаментальные исследования дали возможность разработать оригинальное направление в фармакокоррекции ишемических состояний и создать новый тип антиоксидантных и противоишемических средств. В. В. Дунаев являлся новатором в создании новых лекарственных форм, как вновь синтезированных, так и хорошо известных лекарственных средств.

Важнейшей стороной научной деятельности В. В. Дунаева было постоянное и тесное сотрудничество с клиницистами, совершенствование и разработка современных этиопатогенетических схем лечения сосудистой патологии. До последних дней жизни В. В. Дунаев уделял внимание подготовке кадров, постоянно общался с научной молодежью. Под его руковод-

ством выполнено 18 докторских и 76 кандидатских диссертаций. Его ученики плодотворно работают в Запорожье, Харькове, Ярославле, Ульяновске, Москве, Одессе, Киеве. В. В. Дунаев – автор более 600 научных работ, имеет 80 авторских свидетельств и патентов Украины и России, соавтор первых национальных учебников по фармакологии и фармакотерапии для студентов медицинских фармацевтических ВУЗов Украины.

В. В. Дунаев был более 10 лет членом Государственного фармакологического центра МЗ Украины, членом Специализированных советов по защите докторских и кандидатских диссертаций. Являлся членом редакционной коллегии профильных научных журналов Российской Федерации и Украины. Всю свою жизнь Виктор Владимирович отдал служению науке. Он был неутомимым и талантливым исследователем, обогатившим медицинскую науку трудами первостепенного значения и создавшего оригинальную фармакологическую школу. В. В. Дунаев всегда занимал активную жизненную позицию, а его человеческая доброта, отзывчивость, готовность прийти на помощь навсегда останутся в памяти многих поколений ученых.

Ректорат Запорожского медицинского университета и Ассоциация фармакологов Украины выражают соболезнование родным и близким Виктора Владимировича Дунаева.



# CONTENT

---

## REVIEWS

*Kryvoviaz O. V.* Glaucoma pharmacotherapy: status update of the problem .....3

## CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

*Belenichev I., Pavlov S., Kucherenko L., Masur I.* Energotropic mechanism of the cerebroprotective action of the new original medication «Lisiniy» on the model of the acute cerebral circulation insufficiency ..... 14

*Larionov V. B., Fedorova E. A., Golovenko N. Ya.* Blood-brain barrier permeability analysis for lower aliphatic alcohols on the base of their pharmacodynamics and neurotoxic effects..... 19

## IN SCIENTIFIC LABORATORIES

*Bobyrev V. N., Devyatkina N. N., Devyatkin A. Ye.* Study of therapeutic action of new combined gel «Rotrin-Denta» under the traumatic stomatitis model in rats..... 31

*Boichuk I. V., Pyaskovskaya O. N., Melnikov O. R., Kolesnik D. L., Solyanik G. I.* Anticancer activity of oxyresveratrol: experimental study ..... 37

*Buhtiyarova I. P.* Experimental study of raleukin antioxidant effect in ditizone diabetes in rabbits ..... 43

*Dronova M. L., Korobkova K. S., Vrynchanu N. O., Tokovenko I. P.* Susceptibility of mycoplasmas to aryl aliphatic aminoalcohol derivatives ..... 48

*Klymenko K. I., Novokhatska T. V., Kizub I. V., Dosenko V., Soloviev A. I.* The effect of PKC- $\alpha$  and - $\delta$  isozyme gene silencing on potassium channelopathy and endothelium dysfunction in diabetic rat aorta ..... 53

*Kolos O. M., Zaychenko G. V., Rubashkina O. V., Zaychenko O. A., Bruhanova T. O.* Clinical, biochemical and immunological markers' of hypersensibility of guinea pigs in response to cyclorine ..... 60

*Lukyanchuk V. D., Shebaldova K. O., Kravets D. S., Bobkova L. S.* Dose regime pharmakometric researches of the new antihypoxant VITAGERM-3 ..... 66

*Melnikovskaya N. V., Kudria M. Y., Palagina I. A., Ustenko N. V., Zhurakovskaya M. V., Pavlenko T. A., Sukova Y. P.* The role of 2-hydroxyphenylsuccinamide and  $\beta$ -phenylethylsuccinamide in realization of antioxidant properties of the anti-diabetic medicine – succinic acid derivative..... 70

## WORKING OUT OF THE NEW METHODOLOGICAL WAYS

*Strielkov I. V., Parshikov O. V., Kizub I. V., Gula N. S., Duniyak Y. O., Dobrelya N. V., Khromov O. S.* Real-time videomicroscopic analysis of contractile activity of intrapulmonary arteries ..... 76

## RESEASCHES OF YOUNG SCIENTISTS

*Grygorieva E. V.* Immune system morphofunctional state after Fludinat administration ..... 81

**RECENSIONS** ..... 85

**INFORMATION FOR DRUG'S SAFE USE** ..... 86

**PERSONALITY** ..... 91