СПІВЗАСНОВНИКИ

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

Двомісячне науково-практичне, медичне видання

Фармакологія та лікарська токсикологія

Заснований у серпні 2007 р.
Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 3(28)/2012

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Мерзлікін С. І., Кучер Т. В., Журавель І. О. Інформаційний огляд небезпечних наслідків застосування ламотриджину 3

Чекман І. С., Горчакова Н. О., Нагорна О. О., Нагорна Т. І., Загородний М. І., Довгань Р. С. Експериментальні моделі артеріальної гіпертензії 10

СУЧАСНІ ОСНОВИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Семененко Н. О., Степанюк Г. І., Чорноіван Н. Г., Скорина Д. Ю., Коваленко С. І., Драчук О. П. Вплив похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (сполук DSK-38 та DSK-39) на церебральну гемодинаміку за умов експериментального постреперфузійного ішемічного враження головного мозку 21

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Анісімова С. І., Коваленко В. М., Шаяхметова Г. М., Бондаренко Л. Б., Матвієнко А. В. Вплив протитуберкульозних засобів на рівень експресії мРНК деяких ізоформ цитохрому Р-450 у печінці щурів 26

Геруш О. В., Леницька О. Б., Лар'яновська Ю. Б. Вплив капсул «Гепафісан» на стан печінки на моделі хронічного гепатиту в щурів 32

Грузіна Т. Г., Дибкова С. М., Прискока А. О., Рєзніченко Л. С., Ульберг З. Р., Чекман І. С. Дослідження наночастинок срібла за критеріями генотоксичності, мутагенності та впливу на штами-пробіонти шлунково-кишкового тракту людини та тварин 40

Койро О. О., Штриголь С. Ю. Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria L.*) та 3-о-галактозиду кемпферолу на обмін сечової кислоти в мишей у нормі та за гіперурикемії 47

Філіпець Н. Д. Вплив флокаліну на деякі показники екскреторної функції нирок за умов сольового навантаження 53

Харченко О. І., Богун Л. І., Остапченко Л. І. Уміст цинку в клітинах різних органів щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та за умов застосування оцтовокислого цинку 57

Цубанова Н. А. Вивчення гепатопротекторної дії спіроциклічного похідного оксіндолу за умов гострого тетрахлорметанового гепатиту 61

РОЗРОБКА НОВИХ МЕТОДИЧНИХ ПРИЙОМІВ

Гудзенко А. В., Ковальчук Т. В. Пошук маркерів для стандартизації полікомпонентних фітозасобів з тонізуючою активністю 66

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Шматенко О. П., Тарасенко В. О., Трохимчук О. В., Дроздова А. О., Шматенко В. В. Обґрунтування методологічних підходів та систематизація номенклатури лікарських засобів для лікування запальних захворювань пародонта 75

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ

Савченко Д. С. Дослідження гострої токсичності нанокомпозита високодисперсного кремнезему з наносріблом 79

ОСОБИСТОСТІ

Чекман І. С., Казак Л. І. Доценти кафедри фармакології та клінічної фармакології: М. І. Сластьон, А. М. Домбровська, О. І. Козловська. До 170-річчя кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця 86

CONTENT 91

м. Київ
Видавець: ТОВ «Видавничий дім «Авіцена», 2012 р.

© «Фармакологія та лікарська токсикологія», 2012 р.
© ВД «Авіцена», 2012 р.

УДК 615.213:615.065:615.099:616.853

С. І. Мерзлікін, Т. В. Кучер, І. О. Журавель

Інформаційний огляд небезпечних наслідків застосування ламотриджину

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: епілепсія, протисудомні препарати, побічні дії, отруєння, ламотриджин

Найбільшу токсикологічну небезпеку створюють лікарські засоби, які впливають на ЦНС. За даними токсикологічних служб щорічно у світі реєструється близько 800 тис. летальних отруєнь психотропними, снодійними, седативними, антидепресивними та іншими групами препаратів. Проте кожна лікарська речовина за певних обставин може стати отрутою [1–4], особливо такі, що мають характер довічного призначення.

Епілепсія – одне з найпоширеніших захворювань нервової системи з кількістю хворих у світі понад 40 млн осіб [5]. Проведені в розвинених країнах популяційні дослідження показали, що це захворювання щорічно виявляється в 40–70 осіб на 100 тис. населення [6, 7], а показники захворюваності з урахуванням усієї тривалості життя досягають 3 % [8, 9]. В Україні сьогодні на обліку перебуває близько 100 тис. пацієнтів з діагнозом на епілепсію, а реальна картина – це 500 тис. з її проявами [10, 11].

Для лікування епілепсії застосовують широку групу протисудомних препаратів, зокрема, похідні кислоти барбітурової, гідантоїну, оксазолідин-діону, сукциніміду, бензодіазепіну, кислоти вальпроєвої та фенілтриазину. Специфіка фармакотерапії епілепсії полягає в довготривалому лікуванні пацієнтів, іноді протягом усього життя, що зумовлює високу ймовірність виникнення побічних ефектів внаслідок застосування зазначених лікарських засобів, у тому числі гострих отруєнь [12–14] .

Мета дослідження – проведення інформаційного огляду небезпечних наслідків застосування ламотриджину для обґрунтування розробки методик аналітичної діагностики отруєнь даним лікарським засобом.

Найбільшого застосування в лікуванні епілепсії в Україні має препарат нового покоління похідних фенілтриазину – ламотриджин, який спочатку був запропонований як засіб протиепілептичної терапії, а саме – як препарат другої лінії при резистентній парціальній епілепсії [13]. На першій стадії клінічного застосування в 90-х роках XX-го століття було встановлено вплив ламотриджину на афективні порушення, переважно при розладах біполярного характеру [15]. З'ясувалося, що в таких хворих ламотриджин може використовуватися при гострих маніях [16]. Даний засіб також ефективний при депресії та швидких змінах циклів [17, 18]. З 2003 р. розпочалося широке клінічне застосування ламотриджину для підтримуючого лікування з метою профілактики депресивного епізоду при біполярному розладі I типу [19], у терапії парціальних і генералізованих нападів у дорослих, дітей і осіб похилого віку. Даний засіб застосовують у вигляді додаткової терапії при лікуванні рефрактерної епілепсії, як монотерапію в пацієнтів з уперше встановленим діагнозом на епілепсію та при її рефрактерних формах [20].

На сьогодні ламотриджин виробляється як генеричний засіб у багатьох країнах світу під різними торговими назвами в таблетках по 25, 50 та 100 мг. У таблиці 1 наведені виробники ламотриджину, який зареєстрований як лікарський засіб в Україні [21–23].

Значна кількість торгових назв та виробників ламотриджину збільшує доступність лікування епілепсії. Разом із тим підвищується ризик розвитку ускладнень та передозування [24–26].

Під час лікування дозу препарату та схему лікування підбирають індивіду-

© Колектив авторів, 2012

Таблиця 1

Виробники ламотриджину, який зареєстрований як лікарський засіб в Україні

№	Назва	Виробник, країна
1.	ГЕРОЛАМІК	Дексель Лтд, Ізраїль
2.	ЛАМАЛ ®	Алкалоїд АД – Скоп'є, Македонія
3.	ЛАМЕТОН	Салютас Фарма ГмбХ, Німеччина
4.	ЛАМІДУМ	Ранбаксі Лабораторіз Лтд, Індія
5.	ЛАМІКТАЛ ™	ГлаксоСмітКляйн Фармасьютикалз С.А., Польща
6.	ЛАМІТОР	Торрент Фармасьютикалс Лтд, Індія
7.	ЛАМІТРИЛ	Фармасайнс Інк, Канада
8.	ЛАМОТРИДЖИН ПЛІВА	ТОВ «ПЛІВА Хорватія»
9.	ЛАМОТРИДЖИН САНДОЗ ®	Салютас Фарма ГмбХ, Німеччина
10.	ЛАТРИГІЛ	СТАДА Арцнаймітель АГ, Німеччина
11.	ТРИГІНЕТ	КРКА, д.д., Ново место, Словенія
12.	ЕПІЛАКТАЛ	Фармацевтичний завод «ПОЛЬФАРМА» С.А., Польща
13.	ЕПІМІЛ	АЙВЕКС Фармасьютікалз с.р.о., Чехія
14.	ЕПІРАЛ	Зентіва АТ,Чехія
15.	ЕПІТРИЖИН ®	Балканфарма-Дупниця АТ, Болгарія
16.	ЛАМОТРІН	Фарма Старт, ТОВ, м. Київ, Україна
17.	ЛАТРИДЖИН	Київський вітамінний завод, ЗАТ, м. Київ, Україна
18.	ЕПІЛЕПТАЛ	Фармак, ВАТ, м. Київ, Україна

ально, починаючи з низької – 25 мг/день. Щотижня дозу підвищують на 50–100 мг, поки не буде досягнуто оптимального ефекту. Рекомендована підтримуюча доза – 100–200 мг/день; в окремих випадках вона може сягати 500 мг/день [27–29].

У вітчизняних джерелах про побічні ефекти ламотриджину висвітлено недостатньо і стисло. При застосуванні ламотриджину в основному спостерігаються такі, як запаморочення, головний біль, нудота, сонливість, диплопія, астенія та шкіряний висип [30–34]. Не опубліковано також інформацію щодо зареєстрованих в Україні випадків отруєння ламотриджином.

У зв'язку з вищенаведеним нами здійснено детальний інформаційний огляд зарубіжних джерел щодо мети дослідження. Зокрема, на веб-сайті FDA [35] інформацію про побічні ефекти ламотриджину висвітлено більш детально. Так, одним із небезпечних наслідків його застосування є дерматологічні реакції – часто шкіряний висип, рідко синдром Стівенса-Джонсона, токсичний епідермальний некроліз (синдром Лайєлла) [36–38]. Шкіряні висипи макулопапульозного характеру є основною причиною припинення лікування ламотриджином. У дітей ризик розвитку небезпечного для життя висипу становить 1 з 50 випадків, у дорослих 1 з 1000 випадків [39, 40]. Через важкі реакції шкіри, які загрожують життю, FDA зажадало, щоб виробники ламотриджину публікували спеціальне попередження на етикетці цього продукту [41]. Ризик розвитку висипу може бути суттєво знижений за рахунок мінімізації стартової дози препарату і дотримання рекомендованих схем титрування дози [42, 43].

З боку системи кровотворення небезпечними наслідками застосування ламотриджину можуть бути нейтропенія, лейкопенія, анемія, тромбоцитопенія, панцитопенія, апластична анемія та агранулоцитоз [44]. Застосування ламотриджину також є причиною розладів із боку ЦНС – часто дратівливість, тривожність, головний біль, втома, сонливість, безсоння, запаморочення, порушення рівноваги, тремор, ністагм, атаксія, агресивність, рідко галюцинації, сплутаність свідомості, збудження, порушення рівноваги, рухові розлади, екстрапірамідні розлади, хореоатетоз, почастішання судомних нападів [45, 46], а з боку органів зору – диплопія, нечіткість зору та кон'юнктивіт [47].

Небезпечним наслідком застосування ламотриджину з боку травної системи є нудота, блювання, діарея, рідко порушення функції печінки та печінкова недостатність, а з боку кістковом'язової системи – артралгії та болі в попереку [48]. Застосуванню ламотриджину також притаманні алергічні реакції – синдром гіперчутливості з проявами лихоманки, лімфаденопатії, набряку обличчя, гематологічних порушень, ураження печінки та поліорганної недостатності [49, 50].

Також наведені дані про посилення перебігу епілепсії як наслідок застосування ламотриджину. У 80 % досліджуваних пацієнтів відмічено загострення міоклонічних нападів або почастішання судомних нападів. У 95 % пацієнтів відзначено поліпшення електроенцефалографічних змін та зникнення нападів при припиненні лікування ламотриджином [51–53]. У дітей при застосуванні ламотриджину в дозі 0,7–14,0 мг/кг виявлено негативний вплив на пам'ять, реверсивні порушення, гіперактивність, зорові та слухові галюцинації. При зменшенні доз препарату зазначені побічні дії припинялися [54–56]. У пацієнтів похилого віку виявлено вищі показники побічних ефектів, порівняно з молодими: дисбаланс (16 до 4 випадків), сонливість (13 до 7 випадків), тремор (5 до 2 випадків) [57]. Зареєстровані випадки асептичного менінгіту, як рідкісна побічна дія ламотриджину (усього 45 випадків, із них 1 – летальний) [58].

Аналіз звітів FDA також свідчить, що небезпечним наслідком застосування ламотриджину є також у два рази вищий ризик суїцидальних думок і дій (0,4 %), у порівнянні з пацієнтами, які отримували плацебо (0,2 %): 5 на 1000 випадків. Причинами здійснення суїциду у хворих на епілепсію найчастіше є депресивні стани, які виникають унаслідок ускладнення захворювання, тривалого застосування ламотриджину та наявності залежності (алкогольна, наркотична) [59, 60]. У цих випадках високі дози препарату викликають лактоацидоз, мозкову ішемію, порушення координації рухів, тривогу, сонливість, судоми, зупинку серця та дихання.

На веб-сайті FDA та в зарубіжних наукових джерелах є також повідомлення, що в період 2007–2010 рр. зареєстровано 639 випадків отруєнь ламотриджином (табл. 2).

Дані таблиці 2 свідчать, що в країнах Європи зареєстровано 133 повідомлення про отруєння ламотриджином, Північної Америки – 447, Південної Америки – 7, Азії – 44, Африки – 3,

Таблиця 2

Кількість зареєстрованих випадків отруєння ламотриджином у період 2007–2010 рр.

№	Країна	Кількість отруєнь		№	Країна	Кількість отруєнь	
		Абс.	%			Абс.	%
1.	Австралія	4	0,6	12.	Португалія	2	0,3
2.	Аргентина	4	0,6	13.	Норвегія	9	1,4
3.	Велика Британія	13	2,0	14.	Японія	26	4,1
4.	Данія	6	0,9	15.	Філіппіни	3	0,5
5.	Іспанія	5	0,8	16.	Фінляндія	2	0,3
6.	Італія	3	0,5	17.	Німеччина	27	4,2
7.	Канада	4	0,6	18.	Франція	42	6,6
8.	Китай	8	1,2	19.	Швейцарія	11	1,7
9.	Латвія	2	0,3	20.	Швеція	5	0,8
10.	Нова Зеландія	2	0,3	21.	США	443	69,3
11.	Південна Африка	2	0,3	22.	Країни з одиничним випадком *	15	
Усього: 639 випадків							

*Примітка. *Австрія, Бельгія, Бразилія, Єгипет, Ірландія, Корея, Коста-Ріка, Малайзія, Нідерланди, Хорватія, Перу, Південна Корея, Росія, Тайвань, Чилі.*

Таблиця 3

Причини отруєнь ламотриджином у період 2007–2010 рр.

№	Країна	Причини отруєнь					
		під час лікування (терапевтичні дози)		з них летальних			
				ненавмисне передозування		суїцид	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
1.	Корея, Сирія, Перу, Хорватія	0	0	2	10,0	2	15,4
2.	Норвегія	7	1,3	2	10,0	0	0
3.	Японія	24	4,7	2	10,0	0	0
4.	Німеччина	24	4,7	1	5,0	2	15,4
5.	Франція	39	7,5	3	15,0	0	0
6.	США	424	81,8	10	50,0	9	69,2

Австралії – 4. Найбільша кількість зареєстрованих отруєнь у США пояснюється, перш за все, доступністю до бази даних FDA та поширеним, особливо в останні роки, застосуванням ламотриджину. Високий показник отруєнь у країнах Європи пов'язаний зі «старінням нації», яке зумовлене збільшенням кількості хворих на епілепсію серед пацієнтів похилого віку .

У таблиці 3 наведено кількість отруєнь ламотриджином під час лікування та з летальними випадками, обумовленими ненавмисним та навмисним передозуванням (суїциди) у період 2007–2010 рр.

У таблиці 3 наведено, що загальна кількість зареєстрованих випадків отруєнь ламотриджином під час лікування становить 518, летальних випадків – 33, з них 13 – внаслідок суїциду та 20 – ненавмисного передозування. За умов встановлення причини кількість зареєстрованих випадків отруєнь ламотриджином може бути значно більшою, що також стосується і України.

При застосуванні токсичних доз ламотриджину від 1350 до 15000 мг в організмі відбувається інтенсивний розподіл препарату. Випадки передозування зареєстровані при прийомі 10–20 кратних максимальних терапевтичних доз ламотриджину. Наслідками передозування препарату є сонливість (49,7 %), апатія (20,9 %), блювання (11 %), нудота (5,1 %), атаксія (4,9 %), запаморочення (4,5 %) і тахікардія (4,3 %). Симптоми передозування також включають зниження рівня свідомості, кому та затримку серцебиття. Специфічного антидоту при отруєнні ламотриджином не виявлено. При передозуванні показано промивання шлунка та застосування активованого вугілля [61].

Аналіз джерел літератури також не виявив системних хіміко-токсикологічних досліджень, які стосуються методик аналітичної діагностики отруєнь ламотриджином – способів пробопідготовки зразків біологічного матеріалу для досліджень, методик виявлення та кількісного визначення даної лікарської речовини в екстрактах із біологічного матеріалу та рідинах організму.

Висновки

1. За результатами проведених інформаційних досліджень встановлено, що основним небезпечним наслідком застосування ламотриджину є порушення функцій ЦНС, гострі отруєння як під час лікування епілепсії в терапевтичних дозах, так і при навмисному передозуванні препарату.
2. Аналіз причин отруєння ламотриджином обумовлює необхідність розробки методик їх аналітичної діагностики.

1. *Вергейчик Т. Х.* Токсикологическая химия: учебник / Т. Х. Вергейчик; под ред. проф. Е. Н. Вергейчика.– М.: МЕДпресс-информ, 2009.– 400 с.: ил.
2. Drug poisoning. The Columbia encyclopedia, 6th edition.– Columbia University Press.– 2008.
3. Токсикологическая химия: учебник для вузов / под ред. Т. В. Плетнёвой.– 2-е изд., испр.– М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.– 512 с.

4. Секреты токсикологии / Линг Л. Дж., Кларк Р. Ф., Эриксон Т. Б. [и др.]; пер. с англ.– М.– СПб.: «Изд-во Бином» – «Изд-во «Диалект», 2006.– 376 С.: ил.
5. *Бурчинский С. Г.* Выбор антиконвульсанта в стратегии монотерапии эпилепсии / Бурчинский С. Г. // Международный неврологический журнал.– 2011.– № 2.– С. 78–82.
6. *Калинин В. В*. Противосудорожные и психотропные свойства антиэпилептических препаратов при лечении больных эпилепсией / Калинин В. В., Железнова Е. В.– М.: Артинфо паблишинг, 2008.– 235 с.
7. *Марценковский И. А*. Некоторые современные аспекты лечения эпилепсий / Марценковский И. А. // Здоров'я України.– 2006.– № 23.– С. 43–45.
8. *Гехт А. Б*. Эпидемиология и фармакоэкономические аспекты эпилепсии / Гехт А. Б. // Журн. неврол. психиат.– 2005.– Т. 105, № 8.– С. 63–68.
9. Современные принципы противоэпилептической терапии взрослых / Бурд С. Г., Бадалян О. Л., Чуканова А. С. [и др.] // Лечащий врач.– 2008.– № 8.– С. 40–44.
10. *Харчук С. М*. Рациональная фармакотерапия эпилепсии: традиционные и новые подходы к преодолению старых проблем / Харчук С. М. // Здоров'я України.– 2007.– № 11/1.– С. 16.
11. *Харчук С. М*. Епілепсія: лікування в Україні / Харчук С. М., Компанієць О. Л. // Укр. мед. газета.– 2006.– № 2.– С. 16.
12. *Броди М*. Течение и рациональная терапия эпилепсии / Броди М. // Междунар. неврол. журн.– 2005.– № 4.– С. 72–83.
13. *Марценковский И. А*. Лечение эпилепсии / Марценковский И. А. // Здоров'я України.– 2004.– № 8.– С. 38–39.
14. *Бурчинский С. Г.* Ламотриджин в фармакотерапии болевых синдромов / Бурчинский С. Г. // Международный неврологический журнал.– 2011.– № 2.– С. 73–77.
15. *Walden J*. Value of old and new anticonvulsants in treatment of psychiatric diseases / Walden J., Hesslinger B. // Fortschr. Neurol. Psychiatr.– 1995.– V. 63.– P. 320–335.
16. *Ichim L.* Lamotrigine compared with lithium in mania: a double-blind randomized controlled trial / Ichim L., Berk M., Brook S. // Ann. Clin. Psychiatry.– 2000.– V. 12.– P. 5–10.
17. A double-blind placebo-controlled study of lamotrigine monotherapy in outpatients with bipolar I depression. Lamictal 602 Study Group / Calabrese J. R., Bowden C. L., Sachs G. S. [et al.] // J. Clin. Psychiatry.– 1999.– V. 60.– P. 79–88.
18. A double-blind, placebo-controlled, prophylaxis study of lamotrigine in rapid-cycling bipolar disorder. Lamictal 614 Study Group / Calabrese J. R., Suppes T., Bowden C. L. [et al.] // J. Clin. Psychiatry.– 2000.– V. 61.– P. 841–850.
19. Effectiveness and weight effects of open-label lamotrigine with and without concomitant psychotropic medications in patients with bipolar I disorder / Zarzar M. N., Graham J., Roberts J.[et al.] // MedGenMed.– 2007.– V. 9.– P. 41.
20. *Квасов В. Т.* Эпилепсия у пожилых / Квасов В. Т., Абдулина О. В. // Клин. геронтол.– 2005.– Т. 11, № 8.– С. 31–36.
21. *Бурчинский С. Г*. Ламиктал: новые перспективы применения в психиатрической практике / Бурчинский С. Г. // Арх. психіат.– 2005.– Т. 11, № 1.– С. 170–173.
22. *Громов Л. О*. Вибір комбінації протиепілептичних засобів на основі їх нейромедіаторного профілю дії / Громов Л. О., Євтушенко О. О. // Ліки.– 2005.– № 3–4.– С. 70–75.
23. *Buck T. C.* Does generic lamotrigine lead to larger variations in plasma concentrations? / Buck T. C., Schmedes A, Brandslund I. // Ugeskr Laeger.– 2007.– V. 169.– P. 2013–2015.
24. Сравнительная эффективность препаратов ламотриджинового ряда / Авакян Г., Бадалян О., Биктимеров Р., Варашкевич О. // Врач.– 2007.– № 12.– С. 35–37.
25. *Болдырева С. Р.* Побочные действия антиэпилептических препаратов / Болдырева С. Р., Ермаков А. Ю. // Медицинский совет.– 2008.– № 9–10.– С. 11–15.
26. Effectiveness of lamotrigine in clinical practice: results of a retrospective population-based study / Knoester P. D., Keyser A., Renier W. O. [et al.] // Epilepsy Res.– 2005.– V. 65.– P. 93–100.
27. *Громов С. А.* О некоторых медико-социальных аспектах лечения эпилепсии препаратами нового поколения с учетом их стоимости / Громов С. А. // Журн. неврол. психиат.– 2001.– Т. 101, № 8.– С. 59–61.
28. Исследование эндотелио- и кардиопротективных эффектов ламотриджина, пикамилона и вальпроатов при экспериментальной эндотелиальной дисфункции / Ершов И. Н., Лучкина Е. В., Покровский М. В. [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник.– 2009.– № 3.– С. 50–53.
29. GlaxoSmithKline. Lamictal: First medication since Lithium approved for long-term maintenance treatment of bipolar disorder. 2003. Press Release.
30. Эпилепсия у взрослых (диагностика и лечение) / Дубенко А. Е., Литовченко Т. А., Дзяк Л. А. [и др.] // Нов. мед. и фарм.– 2007.– № 215 (Неврол. и психиат.).– С. 14–15.
31. 1998 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance system / Litovitz T. L., Kleinschwartz W., Caravati E. M. [et al.] // American Journal of Emergency Medicine.– 1999.– V. 17.– P. 435–480.
32. *Перукка Э.* Фармакотерапия эпилепсии у женщин / Перукка Э. // Журн. неврол. психиат.– 2005.– Т. 105, № 11.– С. 60–62.

33. *Дубенко А. Е.* Ламиктал как препарат первого выбора для лечения эпилепсии / Дубенко А. Е. // Укр. вісн. психоневрол.– 2005.– Т. 13, вып. 1.– С. 101–103.
34. *Ємельянова О. І.* Побічна дія протиепілептичних засобів нового покоління у дітей, вагітних та хворих похилого віку / Ємельянова О. І., Філоненко М. А., Сердюк Е. А. // Лік. справа.– 2006.– № 1–2.– С. 44–51
35. Center for Drug Evaluation and Research. A catalog of FDA approved drug products. Washington, DC: U.S. Food and Drug Administration. Accessed on April 01, 2011.
36. Rash in adult patients receiving lamotrigine to treat bipolar I disorder in Korea: A multicenter, prospective, open-label trial /Young Sup Woo, Won-Myong Bahk, Duk-In Jon. [et al.] // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.– 2009.– V. 33.– P. 1147–1152.
37. Toxic epidermal necrolysis with combination lamotrigine and valproate in bipolar disorder / Chuan-Chia Chang, I-Shin Shiah, Hsin-An Chang [et al.] // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2006 – V. 30.– P. 147–150.
38. *Hussain N.* Lamotrigine rash – a potentially life-threatening complication / Hussain N., Gosalakkal J. A. // Emerg. Med. J.– 2007 Jun.– V. 24 (6).– P. 448.
39. Cutaneous adverse reactions to psychotropic drugs: data from a multicenter surveillance program / Lange-Asschenfeldt C, Grohmann R, Lange-Asschenfeldt B [et al.] // J Clin Psychiatry.– 2009.– V. 70 (9).– P. 1258–65.
40. Lamotrigine in children with refractory epilepsy / Celebi A, Yalnmzoglu D, Turanli G [et al.] // Turk J. Pediatr.– 2008.– V. 50(5).– P. 426–31.
41. *Gelisse P*. Reintroduction of treatment with lamotrigine in combination with valproate after an initial allergic skin reaction / Gelisse P, Crespel A. // Rev Neurol (Paris).– 2006.– V. 162.– P. 1122–1124.
42. *Roberts J. N*. The effect of dermatologic precautions on the incidence of rash with addition of lamotriginein the treatment of bipolar I disorder: a randomized trial / Roberts JN, Thompson TR, Nanry KP. // J Clin Psychiatry.– 2006.– V. 67(3).– P. 400–406.
43. *Christian Brandt*. Development of psychosis in patients with epilepsy treated with lamotrigine: Report of six cases and review of the literature / Christian Brandt, Nora Fueratsch, Volker Boehme // Epilepsy & Behavior.– 2007.– V. 11, № 1.– P. 133–139
44. Lamotrigine. – Meyler's Side Effects of Drugs: The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions (Fifteenth Edition).– 2006.– P. 1990–2001
45. Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs. I: Treatment of new onset epilepsy. Report of the TTA and QSS subcommittees of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society / French J., Kanner A.M., Bautista J.[et al.] // Neurology.– 2004.– V. 62.– P. 1252–1264.
46. *Toivo Halonen*. Effect of lamotrigine treatment on status epilepticus-induced neuronal damage and memory impairment in rat / Toivo Halonen, Jari Nissinen, Asla Pitkanen // Epilepsy Research.– 2001.– V. 46, № 3.– P. 205–223.
47. *Ammar AlKawi* Downbeat nystagmus as a result of lamotrigine toxicity / Ammar AlKawi, Jorge C. Kattah, Katie Wyman // Epilepsy Research.– 2005.– V. 63, № 3.– P. 85–88.
48. Adverse effects of carbamazepine, phenytoin, valproate and lamotrigine monotherapy in epileptic adult Chinese patients / Kebin Zeng, Xuefeng Wang, Zhiqing Xi [et al.] // Clinical Neurology and Neurosurgery.– 2010.– V. 112, № 4.– P. 291–295.
49. *Tauboll E.* Gjerstad antiepileptic drugs gender-specific side-effects of antiepileptic drugs / E. Tauboll, J. I. T. Isojarvi, L. // Encyclopedia of Basic Epilepsy Research.– 2009.– P. 1485–1490.
50. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: Third edition.– London: Pharmaceutical Press, electronic version, 2005.
51. Disabling erratic myoclonus during lamotrigine therapy with high serum level: Report of two cases / Janszky J., Rasonyi G., Halasz P. [et al.] // Clin. Neuropharmacol.– 2000.– V. 23.– P. 86–89.
52. Development of psychosis in patients with epilepsy treated with lamotrigine: report of six cases and review of the literature / Brandt C., Fueratsch N., Boehme V. [et al.] // Epilepsy Behav.– 2007.– V. 11 (1).– P. 133–139.
53. Efficacy and safety of lamotrigine monotherapy in children and adolescents with epilepsy / Ignacio Valencia, Gerard Pinol-Ripoll, Divya S. Khurana [et al.] // European Journal of Paediatric Neurology.– 2009.– V. 13, № 2.– P. 141–145.
54. Lamotrigine childhood overdose / George Briassoulis, Panajiotis Kalabalikis, Maria Tamiolaki [et al.] // Pediatric Neurology.– 1998.– V. 19, № 3.– P. 239–242.
55. Reversible lamotrigine-induced neurobehavioral disturbances in children with epilepsy / Cardenas JF, Rho JM, Ng YT. // J Child Neurol.– 2010.– V. 25.– P. 182–187.
56. Effect of lamotrigine and environmental enrichment on spatial memory and other behavioral functions in rats / Nowakowska E, Czubak A, Kus K, [et al.] // Arzneimittelforschung.– 2010.– V. 6.– P. 307–314.
57. The effect of age and comedication on lamotrigine clearance, tolerability, and efficacy / Arif H, Svoronos A, Resor SR Jr, [et al.] // Epilepsia.– 2011.– V. 10.– P. 1528–1167.
58. Lamotrigine-induced aseptic meningitis: a case report / Green MA, Abraham MN, Horn AJ, [et al.] // Int Clin Psychopharmacol.– 2009.– V. 24.– P. 159–61.
59. The effects of lamotrigine on alcohol seeking and relapse / Valentina Vengeliene, Christian A. Heidbreder, Rainer Spanagel // Neuropharmacology.– 2007.– V. 53, № 8.– P. 951–957.

60. *Михайлов В. А.* Актуальные вопросы эпилептологии – стигматизация, качество жизни и реабилитация больных / Михайлов В. А. // Эпилепсия и пароксизмальные состояния.– 2010.– Т. 2, № 3.– С. 39–44.
61. Компендиум 2008 – лекарственные препараты / Под. Ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова.– К.: МОРИОН, 2008.– С. 130–131.

С. И. Мерзликин, Т. В. Кучер, И. А. Журавель

Информационный обзор опасных последствий применения ламотриджина

В статье приведены результаты информационных исследований относительно побочных эффектов, причин и последствий отравлений ламотриджином. Установлено, что в период 2007–2010 гг. в различных источниках опубликовано 639 зарегистрированных случаев отравлений данным препаратом, из них 33 – с летальным исходом. Определены причины отравления ламотриджином – во время лечения эпилепсии в терапевтических дозах и при передозировке, что является основанием для разработки методик их аналитической диагностики.

Ключевые слова: эпилепсия, противосудорожные препараты, побочные действия, отравления, ламотриджин

S. I. Merzlikin, T. V. Kucher, I. A. Zhuravel

The informative review of dangerous results of lamotrigine use

Results of informative researches relatively side-effects, reasons and results with lamotrigine poisoning have been represented in the article. There were established 639 registered by different sources cases of poisoning with lamotrigine from 2007 to 2010. Adding to that, 33 cases of death were registered among them. Reasons of lamotrigine poisoning were determined; they include poisoning during the epilepsy treatment and overdose (unintentional and intentional or suicide). Obtained results are the ground for the development of analytical diagnostic methods of lamotrigine poisoning.

Key words: epilepsy, anticonvulsants, side effects, toxicity, lamotrigine

Надійшла: 27.12.2011 р.

Контактна особа: Мерзлікін Сергій Іванович, професор, доктор фармацевтичних наук, кафедра токсикологічної хімії, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: (572) 67-91-92, тел/факс (57) 714-25-40.
E-mail: diacamph@mail.ru

УДК 616.12-008.331.1: 612.08 [615.225.2+615.272]

І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, О. О. Нагорна, Т. І. Нагорна, М. І. Загородний, Р. С. Довгань

Експериментальні моделі артеріальної гіпертензії

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

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, експериментальні моделі, спонтанно гіпертензивні щури

З метою поглибленого вивчення етіології та патогенезу артеріальної гіпертензії (АГ) слід розробити експериментальні моделі, що сприятимуть впровадженню ефективніших методів фармакологічної корекції даної патології. Останніми роками вчені світу розробляють моделі на різних тваринах і вивчають не тільки патогенетичні механізми розвитку АГ, але й вплив різних екзогенних та ендогенних агентів, у тому числі лікарських засобів, на артеріальний тиск, зміни у функції та обміні речовин. Під час підвищення артеріального тиску за рахунок збільшення серцевого викиду, об'єму циркулюючої крові, стресової дезадаптації вищих нервових центрів розвивається артеріальна гіпертензія [9, 10, 35].

Програма дослідження нових біологічно активних сполук складається з 2 етапів: I етап – відбір і первинна оцінка гіпотензивних засобів, встановлення параметрів безпечності та токсичності. Вивчення проводиться на 2–3 видах лабораторних тварин. II етап – поглиблене дослідження потенціальних антигіпертензивних засобів. На нормотензивних та гіпертензивних тваринах вивчають антигіпертензивні властивості біологічно активних речовин, після чого проводять досліди на тваринах зі спонтанною або експериментально відтвореною гіпертензією. Звертають увагу на такі показники: видова чутливість до впливу речовини на судини; виділення питомої ваги судинного і серцевого компонентів під час гіпотензивної дії. Спостерігають за впливом речовин на артеріальний тиск на моделях гіпертензії за умов курсового застосування. Важливе значення мають показники центральної гемодинаміки і відповідь центральних вазомоторних структур. Таким чином встановлюють механізм антигіпертензивної дії, впливу на кровопостачання життєво важливих органів та вивчають біохімічні механізми гіпотензивного впливу [5].

Патогенез спонтанної артеріальної гіпертензії в щурів (spontaneously hypertensive rats (SHRs)) значною мірою зберігає подібність з патофізіологічними механізмами артеріальної гіпертензії людини. Аналіз даних літератури показав, що існує декілька трансгенних ліній тварин для моделювання експериментальної гіпертензії в тварин [19]. Основними тваринами для вивчення есенціальної спонтанної артеріальної гіпертензії є лінії SHR щурів, що отримують шляхом схрещення 2 трансгенних штамів. Один з них має ендогенний промоутер людського ангіотензиногену, а інший – ендогенний промоутер людського реніну. У таких щурів швидко розвивається гостра гіпертензія з підвищенням систолічного тиску до 200 мм рт. ст. [19, 43].

Характеристику основних моделей експериментальної гіпертензії в тварин наведено в таблиці 1 [2, 16, 32, 42].

На ранніх стадіях артеріальної гіпертонії спостерігають зміни функції серцево-судинної системи (підвищений ударний та хвилинний серцевий викид, загальний периферичний опір судин, гіпертрофію міокарда). Мають місце зміни обміну речовин у серцевому м'язі, судинах, нирках, печінці, центральній нервовій системі та інших органах [11, 49].

Гіпертрофія лівого шлуночка в щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією лінії SHR супроводжується морфо-

© Колектив авторів, 2012

Таблиця

Експериментальні моделі артеріальної гіпертензії в щурів

Вид щурів	Мета використання
Спонтанно гіпертензивні щури – Spontaneously hypertensive rats (SHRs)	Вивчення патогенезу розвитку артеріальної гіпертензій та змін у серцево-судинній системі, інших органах при даній патології, у тому числі під впливом лікарських засобів
Схильні до інсульту спонтанно гіпертензивні щури – Stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP)	Дослідження патогенезу артеріальної гіпертензії, частоти смертності від інсульту при цій патології, змін в інших органах
Гіпертензія в щурів, викликана збільшенням вживання NaCl Dahl salt-sensitive rat (DSS)	Встановлення генетичних механізмів розвитку артеріальної гіпертензії в щурів з артеріальною гіпертензією, що викликана надлишком солі в організмі, а також порушень обміну вуглеводів та ліпідів, що сприяє розвитку діабету
Генетичні лінії трансгенних щурів (TGR (mREN2)27)	Вивчення генетичних змін у внутрішніх органах внаслідок високого артеріального тиску, ролі ренін-ангіотензивної системи, що впливає на регулювання кров'яного тиску
Щури з граничною гіпертензією – Borderline hypertensive rat (BHR)	Визначення ролі генетичних і гормональних факторів, що впливають на зміни в серцево-судинній системі та інших органах
Щури з ожирінням Zucker – Obese Zucker rats	Дослідження ролі ожиріння, гіперглікемії, гіперінсулінемії, функції нирок у розвитку артеріальної гіпертензії
Щури лінії Вістар Ottawa Karlsburg W – Wistar Ottawa Karlsburg W (WOKW)	Встановлення ролі метаболічного синдрому, гіперінсулінемії в розвитку артеріальної гіпертензії
Щури лінії Вістар Kyoto – Wistar Kyoto rat (WKY)	Порівняльний аналіз ролі артеріального тиску у виникненні змін у міокарді, судинах та інших органах при патології
Щури лінії Sprague-Dawley – Sprague-Dawley rats (SDR)	Вивчають зміни в серцево-судинній системі та інших органах при даній патології

логічною перебудовою міокарда з гіпертрофією кардіоміоцитів, мітохондрій та периваскулярним фіброзом коронарних артерій [12, 19, 21].

При артеріальній гіпертензії виникають структурні зміни судин, які проявляються потовщенням судинної стінки та звуженням просвіту судин, частіше дрібних артерій та артеріол. Такі зміни призводять до збільшення опору кровотоку навіть у стані максимальної дилатації судин. Дослідження структури артеріальної стінки показало, що співвідношення діаметра люмена в щурів лінії SHR значно вище, ніж у цих тварин лінії WKY [29].

Моделі ішемії головного мозку щурів класифікують на глобальні і координаційні та на незворотні та зворотні. Для відтворення реперфузійного пошкодження в дослідах використовують зворотну координаційну модель ішемії. Реперфузійне пошкодження здатне розвиватися в пацієнтів, які перенесли інсульт. Також поширена модель із залученням спонтанно гіпертензивних щурів (SHR). Досліджують наступні показники: гіпотермію, гіперглікемію, артеріальний тиск. На ступінь ішемічного ушкодження нейронів впливає переохолодження. Визначення ступеня пошкодження внаслідок ішемії мозку здійснюється за допомогою гістологічних методів та магнітно-резонансної томографії, за рахунок яких отримують інформацію щодо обсягу враження. Моделі дозволяють вивчити ефективність нейропротекторного лікування після інсульту [46].

Схильних до інсульту спонтанно гіпертензивних щурів (stroke-prone

spontaneously hypertensive rat (SHRSP)) використовують для індуцибельної моделі інсульту великих артерій. SHRSP є адекватною моделлю для вивчення інсультів людини. Звертається увага на генетичні фактори, що призводять до судинних пошкоджень, у тому числі мозку [14].

Важливу роль у регулюванні артеріального тиску має вплив окисного стресу. Модель реперфузійного інсульту викликали шляхом введення ендотеліну-1 щурам SHR. Стимуляція рецепторів ангіотензину II 2 типу (angiotensin II type 2 receptor (AT2R10) показала нейропротекторний вплив. AT2R потребує подальших досліджень, тому що може стати терапевтичною мішенню для лікування інсульту [24].

Виведена лінія щурів, яка отримала назву схильні до інсульту спонтанно гіпертензивні щури (Stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP). Для цієї лінії характерні більш часті випадки смертності від інсульту, високі показники артеріального тиску, цереброваскулярні ураження. Застосовують цю модель для експериментального вивчення профілактики інсульту. Гіпертрофія судин при цій патології призводить також до підвищення судинного опору, що зумовлює погіршення їх функціональної гнучкості та підвищення розвитку тромбозу, нефросклерозу, крововиливу в мозок тощо. Вищезазначені лінії використовують в експериментальних дослідженнях для вивчення патогенезу артеріальної гіпертензії та для розробки методів профілактики гіпертонічної хвороби [24].

У світовій літературі використовують також модель експериментальної гіпертензії, яку викликають годуванням щурів додаванням до їжі NaCl (Dahl salt-sensitive rat (DSS)). У DSS тварин після застосування дієти з високим умістом солі (8 % NaCl) розвивалася артеріальна гіпертензія. Генетичні механізми сіль-чутливості гіпертонії недостатньо вивчені. Після 4 тижнів дієти з високим умістом солі в DSS на 60 % збільшилися показники систолічного артеріального тиску.

Діабет є фактором ризику розвитку ішемії міокарда та коронарного атеросклерозу. Глюкагон-подібний пептид-1 регулює метаболізм глюкози, тому що здатний поліпшувати контроль глікемії в пацієнтів з діабетом II типу. Застосування глюкагон-подібного пептиду-1 тваринам DSS дозволяє частково відновлювати функцію ендотелію в ізольованих кільцях аорти. У DSS гіпертензивних щурів спостерігається також зниження показників ниркової протеїнурії і альбумінурії. DSS є моделлю для вивчення ниркової недостатності та діастолічної дисфункції серця, що характеризується гіпертрофією лівого шлуночка. У DSS спостерігали гіпертрофію міокарда, спричинену порушенням окиснення жирних кислот і стимулюванням інсуліном споживання глюкози [33].

Серцева недостатність міокарда пов'язана з порушенням скорочувальної фукції та змінами в енергетичному метаболізмі. DSS щурів годують дієтою з високим умістом солі. Протягом 8 тижнів застосовують ресвератрол у дозі 18 мг/кг/добу щурам DSS. Препарат запобігав збільшенню маси тіла на 25 % та на 64 % поліпшував виживаність тварин DSS. Ресвератрол протидіє розвитку серцевої дисфункції на 34 %, позитивно впливає на ендотелій-залежне розслаблення гладеньких м'язів та функцію мітохондрій. Ресвератрол ідентифікований як активатор енергетичного метаболізму, він виявляє протизапальну та антиоксидантну дію. Встановлено, що лікарський засіб покращує роботу серця без зміни кров'яного тиску [39, 50].

Діабетична ретинопатія (ДР) є наслідком судинних ускладнень цукрового діабету 1 або 2 типу. Молекулярні зміни, що спостерігаються в сітківці внаслідок діабету, пов'язані з артеріальною гіпертензією. Показано позитивний вплив антиоксидантного лікування діабетичної сітківки завдяки здатності збільшувати кількість продукції ферменту антиоксидантного захисту [41].

Оцінено особливості перебігу метаболічного синдрому з використанням тварин лінії Dahl salt-resistant (DSR) та Dahl salt-sensitive (DSS). Метаболічний синдром характеризується гіперінсулі-

немією, артеріальною гіпертензією, дисліпідемією, порушеннями толерантності до глюкози тощо. У DSS тварин встановлено інсулінорезистентність. Протягом 8 тижнів щурам призначали 2 типи дієт: дієта з низьким умістом натрію (85 ммоль Na/кг корму) та дієта з високим умістом натрію (340 ммоль Na/кг корму) з щотижневим вимірюванням артеріального тиску. Статистична оцінка досліджуваних показників між групами проведена за допомогою дисперсійного аналізу. Спостерігали підвищений рівень сечової кислоти, збільшення показників холестерину і ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) в DSS щурів [20].

Виведена генетична лінія трансгенних щурів TGR(mREN2)27. Перевагою цієї моделі при вивченні патогенезу артеріальної гіпертензії є можливість досліджувати фенотипічні зміни в різних органах. Починаючи з п'ятитижневого віку в тварин розвивається високий артеріальний тиск (200–260 мм рт. ст.), спостерігається потовщення стінок артеріол і великих артерій. Гіпертрофія лівого шлуночка (ЛШ) спостерігається на 10 тижні життя тварин. Гіпертрофія ЛШ і фіброз пов'язані з підвищенням системного артеріального тиску. Трансгенні щури TGR(mREN2)27 страждають на важку форму артеріальної гіпертензії та мають високий рівень експресії реніну. Нормалізація артеріального тиску крові досягається в щурів за умов лікування протягом 28 днів інгібітором АПФ раміприлом та антагоністом кальцію амлодипіном. Лікування амлодипіном сприяє зниженню артеріального тиску до контрольних значень. Досліди на даній моделі експериментальної гіпертензії на тваринах дозволяють отримати інформацію про взаємозв'язок гіпертрофії лівого шлуночка з систолічним артеріальним тиском. Суттєву роль може відігравати порушення функції ренін-ангіотензивної системи [17].

Використання щурів з граничною гіпертензією (borderline hypertensive rat (BHR)) показало важливу роль генетичних і гормональних факторів щодо змін з боку серцево-судинної системи при даній патології. Тривалий підвищений рівень глюкокортикоїдів збільшує ймовірність виникнення серцево-судинних захворювань, пов'язаних з гіпертонією. Експерименти проводили на тваринах протягом 7–9 тижнів. Встановлено недостатню адаптацію серцево-судинної відповіді на повторювані стреси. Розуміння дії глюкокортикоїдів і генетичної схильності у розвитку серцево-судинних захворювань дозволить поліпшити методи лікування даної патології [15].

У патогенезі хронічних захворювань нирок та серцево-судинної патології бере участь ренін-ангіотензинова система. До підвищення артеріального тиску призводить активація ренін-ангіотензину і збільшення сироваткового рівня вазопресину. Нефректомія в експериментальних дослідженнях на тваринах призводить до протеїнурії та прогресування термінальної стадії ниркової недостатності. Одностороння нефректомія не викликає гіпертонію [1, 40].

Ренін-ангіотензинова система (РАС) впливає на регулювання кров'яного тиску та електролітного гомеостазу. У дослідженнях використовували зразки ангіотензину людини TGR-(hAOGEN) та реніну людини TGR(hREN). Повідомлено про успішне застосування генів ренін-ангіотензину в трансгенних щурів: щури TGR(mREN2)27 використовують як моделі для відтворення гіпертонічної хвороби, тому що досліди на трансгенних тваринах дозволяють вивчити специфічні генні взаємодії. Виявлено, що продукти реніну та ангіотензину не перехресно реагують з ферментами РАС щурів, що зумовлює можливість проведення доклінічних досліджень нових лікарських засобів на тваринах [26].

Оксид азоту (NO) відіграє важливу роль у регулюванні системного судинного опору. Визначено кілька видів ізоформи NO-синтази: ендотеліальна NO-синтаза, нейронна NO-синтаза та індуцибельна NO-синтаза. Вивчення індуцибельної NO-синтази дозволяє зрозуміти механізми судинних аномалій, що пов'язані з цукровим діабетом. Ці ферменти утворюються за участі різних генів, мають різну локалізацію,

чутливість до інгібіторів, каталітичні властивості. Індуцибельна NO-синтаза визнана складовою частиною в реалізації цитотоксичних і цитостатичних механізмів дії, і відіграє ключову роль у непереносимості глюкози в мишей [44]. Порушення продукції оксиду азоту має відношення до процесу підвищення тиску. У дослідженнях показано, що рецептор епідермального фактора росту (epidermal growth factor receptor (EGFR)) є головним регулятором судинного тонусу [48].

При пероральному введенні інгібітору NO-синтази спостерігають стійкі явища гіпертензії: клубочкову ішемію, гломерулосклероз, інтерстиціальну інфільтрацію в нирках тощо. Ангіотензин II відіграє важливу роль у фізіологічній регуляції судинного тонусу і артеріального тиску, а також у серцево-судинному гомеостазі. Тривалий вплив спеціальної дієти (високий уміст жиру, солі) призводить до розвитку гіпертонії в деяких тварин і людей, а споживання фруктози тваринами – до розвитку метаболічного синдрому при гіпертензії, що значно прискорює прогресування хронічної хвороби нирок. Ниркова ішемія пов'язана зі зниженням клубочкової фільтрації [24]. Ризик прогресування ниркової недостатності пов'язаний з високим артеріальним тиском, хоча генів, відповідальних за розвиток гіпертонічного захворювання нирок, не було виявлено.

Відтворено експериментальну модель гіпертензії в щурів, основою якої є гальмування NO-синтази. Гіпертонію викликали введенням неселективного інгібітора NO-синтази L-NAME (L-NG-Nitroarginine methyl ester (hydrochloride) в дозі 24 мг/кг на день протягом 6 тижнів.

Щури DSS є якісною моделлю для вивчення артеріальної гіпертонії. Показано звуження просвіту судин і потовщення медіального шару артерій і артеріол внаслідок стійкого підвищення артеріального тиску, що свідчить про порушення судинного процесу ремоделювання та подальший розвиток тканинної гіпоксії [Ying W.Z. et al., 2005].

Метаболічний синдром характеризується наступними факторами ризику: ожирінням, гіперглікемією, гіпертонією тощо. Це багатофакторний стан, для якого потрібні різні види лікування, тому на даний час складно знайти якісні експериментальні моделі метаболічного синдрому, важливо розробити експериментальні моделі з визначенням метаболічних та гістологічних показників. Для моделювання метаболічного синдрому використовують щурів з ожирінням Zucker та спонтанно гіпертензивних щурів.

Щури лінії Zucker мають патологічні зміни, пов'язані з ожирінням, подібні до патологічних змін у людському організмі. Щури з ожирінням є найвідомішою лінією, що застосовують як генетичну модель зайвої ваги. Тварини помітно набирають вагу між 3 і 5 тижнями життя, що, імовірно, пояснюється змінами лептин-рецепторів. Лептин – це гормон, що виробляється жировою тканиною й відіграє важливу роль у регуляції енергетичного балансу. Під впливом даного гормона на лептин-рецептори виникає відчуття ситості та запускається процес збільшення витрати енергії організмом. До 14 тижня життя жирова тканина тварин становить 40 % від маси тіла. У щурів з ожирінням розвивається гіпертрофія й гіперплазія адипоцитів та інші ендокринні порушення. Гіперінсулінемія виявляється на 3-му тижні життя тварин. Спостерігають порушення нормальної функції нирок. За допомогою фармакологічних методів (застосування налоксону, акарбози, D-амфетаміну тощо) відмічали нормалізацію маси тіла щурів. Позитивні результати мало також обмеження прийому їжі. Активність ліпопротеїнліпази може корелювати з більш інтенсивним використанням жирової тканини організму. Встановлено, що щури з ожирінням можуть уважатися тваринами для відтворення моделі не тільки ожиріння, але і гіпертонії, тому що гіпертензія пов'язана з генотипом при ожирінні. Підвищений артеріальний тиск пояснюється, ймовірно, дисфункцією ендотелію. Збільшення частки жирової тканини в щурів з ожирінням призводить до збільшення вироблення

ангіотензину II і реактивних форм кисню, тому це явище може сприяти розвитку гіпертонії. Жирова тканина має важливі імунні та ендокринні функції [13].

Спонтанно гіпертензивні щури з ожирінням – лінія, яку використовують у експериментальних дослідженнях як модель для вивчення гіпертонії. Маса тіла тварин швидко зростає (вага на 7–12 місяць життя становить 750–1000 г). У цих тварин спостерігають розвиток гіперліпідемії навіть за нормальної дієти, підвищення показників холестерину в плазмі крові, гіперінсулінізм. Артеріальний тиск підвищується з 8-тижневого віку й досягає 180–200 мм рт. ст. на 20–30 тиждень життя [13].

У 1995 році виведено нову лінію щурів, які отримали назву Wistar Ottawa Karlsburg W (WOKW). Досліди на цих тваринах дозволяють створити якісну модель для відтворення метаболічного синдрому, пов'язаного з ішемічною дисфункцією. Щури WOKW починають виявляти ознаки метаболічного синдрому між 8 і 10 тижнем життя. Розвивається помірна артеріальна гіпертензія, гіперінсулінемія, дисліпідемія, порушення глікемічної толерантності тощо. Селективним методом виведено щурів, які отримали назву low-capacity runner (LCR). Дослідами на цих тваринах виявляють показники ендотеліальної дисфункції, вісцерального ожиріння, резистентність до гіперінсулінемії та до інсуліну тощо [13].

Під контролем деяких генів відбувається регуляція артеріального кров'яного тиску. Саме тому в дослідженнях звертається увага на хромосоми піддослідних тварин, зокрема на кількісні локус-ознаки (quantitative trait locus – QTL). Важливою стратегією для пошуку генів є ідентифікація QTL, які відповідають за регулювання тиску. Проведена ідентифікація гена, що кодує CD36 (cluster of differentiation 36) як причини дисліпідемії та інсулінорезистентності в дослідах на спонтанно гіпертензивних щурах. CD36 вивчали як фактор впливу на артеріальний тиск і розвиток гіпертонії. Проведено також досліди на схильних до інсульту спонтанно гіпертензивних щурах (stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHRSP)). У досліді використали 12 самок щурів лінії SHRSP у віці 6 місяців. Аналіз даних проводили за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу. 83 % щурів були схильні до ішемічного враження, решта – схильні до дихальної та серцевої недостатності. Появу симптомів реєстрували приблизно на 450 день життя. З віком у тварин розвиваються необоротні пошкодження, що посилюють дисфункцію судин. Інсульт спостерігали в 10 з 12 щурів генетичної лінії SHRSP. Також відбувався розвиток серцево-судинних та ниркових ускладнень. Додаткове дослідження пошкоджень внутрішніх органів дозволить зрозуміти механізми виникнення цієї патології [27]. Виділено два елементи QTL артеріального тиску, які можуть стати матеріалом для подальшого вивчення. Фенотипування є одним з методів виявлення генетичних детермінант захворювання [23].

Останніми роками в лікуванні серцево-судинних захворювань широко застосовуються інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ). Ця група препаратів блокує активність ренін-ангіотензинової системи (РАС) і проявляє ангіопротекторну, кардіопротекторну, антиатерогенну, протитромботичну дію.

Важливою властивістю інгібіторів АПФ є їхня ліпофільність. Чим вища ліпофільність препарату, тим кращим буде його проникнення в усі «зацікавлені» органи: серце, судини, нирки, легені та надниркові залози. При високому показнику ліпофільності після прийому препарату значно пригнічується активність не тільки циркулюючої, але й тканинної РАС, чим забезпечується захист органів-мішеней, гальмується розвиток атеросклеротичних бляшок.

У щурів, які отримували телмісартан, раміприл та їхні комбінації, мало місце попередження розвитку гіпертонії. Щурів лінії SHRSP розподілили на чотири групи: 1 група – контрольна; у 2 групі тварини отримували телмісартан, у 3 групі щури отримували інгібітор АПФ раміприл, у 4 групі застосовували комбінацію телмісартану та рамі-

прилу. Застосування вказаних препаратів та їхніх комбінацій поліпшило показники виживання, тому що всі тварини, які отримували лікарські засоби, вижили протягом 13-тижневого періоду дослідження. У тварин, що вижили, ознак набряку, геморагічної патології не виявлено. У тварин, що загинули, виявлено інсульт [45].

Відомо, що існує зв'язок між курінням і рівнем артеріального тиску, що пояснюється дефіцитом nAChRs (nicotinic acetylcholine receptor). Дослідження проводили на щурах лінії WKY (Wistar Kyoto rat) та SHRs. Було встановлено взаємозв'язок між дефіцитом nAChRs та змінами на рівні транскрипції мРНК у певних ділянках мозку [Wigestrand M.B. et al., 2011]. Рівень субодиниць мРНК для кодування nAChRs визначений за допомогою методу кількісної полімеразної ланцюгової реакції (кПЛР, qPCR), що реалізується шляхом багаторазового подвоєння певної ділянки ДНК. У результаті утворюється достатня кількість матеріалу для вимірювання незначної кількості мРНК, що знаходиться в окремій клітині чи тканинах [37].

Хламідії, що викликають пневмонію (*Chlamydia pneumoniae* – *Cpn*), вважаються фактором ризику виникнення хвороб коронарної артерії й атеросклерозу. Вивчали вплив *Cpn* на ішемічну хворобу серця (ІХС). Дані підтвердили гіпотезу про те, що інфекційне захворювання *Cpn* є причиною прогресування ІХС. Моделі на тваринах підтверджують ефекти *Cpn* щодо виникнення атеросклерозу аорти. Наприклад, підтверджено виникнення атеросклерозу під впливом *Cpn* у кролів. Показано прискорення під впливом *Cpn* утворення на макрофагах пор. Такі дослідження дозволять покращити розуміння патогенезу та механізмів розвитку атеросклерозу [28].

Портальна гіпертензія характеризується збільшенням потоку крові та судинного опору. Поява пошкоджень на слизовій оболонці шлунка здатна викликати гастропатію. За допомогою гістологічного аналізу оцінювали ступінь пошкоджень тканин шлунка. Окиснювальний стрес вимірювали за допомогою визначення цитозольної концентрації реактивних сполук тіобарбітурової кислоти, оксиду азоту та гідроперекисів. Проаналізовано активність ферментів: каталази, глутатіонредуктази та супероксиддисмутизи. Підтверджено, що застосування молекул з антиоксидантним потенціалом може попереджати та зменшувати окиснювальні пошкодження тканини шлунка [34].

Причиною виникнення кардіоміопатії може бути гіпертонія, ішемія, діабет, серцева недостатність та кардіоміопатія. Спостерігається збільшення розміру шлуночків і порушення скорочувальної активності міокарда. Дилатаційна кардіоміопатія є ідіопатичною. Етіологію захворювання вивчено недостатньо. На початку 1990-х років почали розглядати ідею застосування альтернативної терапії з використанням клітинної трансплантації. Моделювання кардіоміопатії в експериментах на тваринах проводять з метою визначення взаємозв'язку кардіоміопатії з генетичними факторами, а також з впливом інфекційних агентів. Для дослідження препаратів, що відновлюють функцію серця, застосовували доксорубіцин-індуковану модель серцевої недостатності на мишах [22]. Імуногістохімічний аналіз показав приживлення міобластів. Розроблено модель дилатаційної кардіоміопатії на собаках. У тварин викликали серцеву недостатність. 5 тваринам вживлювали по 20 зразків з клітинами міобластів у кількості 1,5–2,5 млн. Показано поліпшення фракцій викиду лівого шлуночка зі зменшенням об'єму камери. Використана модель автоімунного міокардиту в щурів, які були імунізовані проти міозину. Оцінювали адгезійні властивості ендотеліальних клітин-посередників. Отримано висновок, згідно з яким дисфункціональний стан ендотеліальних клітин-посередників сприяє пошкодженню міокарда [22].

Людський ген фактора росту гепатоцитів уводили в міокард хом'ячків. Показано скорочення фіброзної області на 27 %. Підвищення рівня щільності капілярів склало 33 %. Отже, для створення моделі дилатаційної кардіоміо-

патії застосовують різні тварини та вивчають різні зразки клітин (мезенхімальні стовбурові клітини, скелетні міобласти, диференційовані кардіоміоцити тощо) [22].

Окситоцин, як і геністеїн, має позитивний вплив на серцево-судинну систему. Геністеїн відноситься до фітоестрогенів. Визначали вплив невеликих доз геністеїну та окситоцин-індуковані ефекти в щурів. Використовували для дослідження щури лінії Sprague-Dawley та SHR. Виявлено, що окситоцин здатен регулювати судинний тонус та артеріальний тиск. Рецептори окситоцину в основному знаходяться в ендотеліальних клітинах і кардіоміоцитах. Активація рецепторів окситоцину стимулює кардіопротекторну реакцію, впливає на звільнення передсердного натрійуретичного пептиду та оксиду азоту. Концентрація окситоцину в плазмі Sprague-Dawley щурів зросла після застосування геністеїну. Дослідження моделі ішемічної хвороби серця на щурах виявило зменшення негативного впливу інфаркту під впливом окситоцину. Для SHR щурів використання геністеїну призводило до зменшення гіпертрофії міоцитів. Показано позитивний вплив на функцію серця в SHR щурів окситоцину [30].

Фактор росту ендотелію судин викликає важкі ангіопроліферативні явища в щурів Sprague-Dawley чоловічої статі. Лікування карведилолом призвело до пониження ЧСС. Зареєстровані антифіброзні ефекти карведилолу, що говорить про позитивний ефект лікування щурів із важкою ангіопроліферативною легеневою гіпертензією та патологією ПШ [18].

Досліджували мітохондріальний геном гіпертензивних щурів: DSS і DSR, SHR. Розбіжність у показниках кров'яного тиску DSS і DSR щурів пояснюється ядерними геномами. Вивчення мітохондріального геному може надати цінну інформацію про механізми артеріальної гіпертензії [31].

Існує необхідність виявлення нових біологічних шляхів регуляції артеріального тиску. Гіпертонія є багатофакторним розладом, що залежить від віку, статі, генетичного складу, способу життя та ін. Аналіз експресії генів, що впливають на нирки, печінку та серце, дозволить поглибити уявлення про регуляцію кров'яного тиску. Ці органи є центральними регуляторами кров'яного тиску. Лінії мишей з генетично детермінованим високим кров'яним тиском (ГГВКТ) створені як модель гіпертонії. Також використовують модель мишей низького артеріального тиску та нормального артеріального тиску. Миші ГГВКТ мали в середньому на 30 мм рт. ст. більш високий тиск, а миші низького артеріального тиску порівняно з контрольною групою – на 20 мм рт. ст. нижчий кров'яний тиск. При даній моделі АГ виявлено супутні захворювання: збільшення розмірів нирок та серця, прискорене серцебиття і рання смертність. Виявлено кілька локусів генів, що можуть мати відношення до регуляції артеріального тиску: Npr1 протидіє ефектам фізіологічного впливу ренін-ангіотензинової системи, CCR5 знаходиться в моноцитах. Цей ген пов'язаний з високим кров'яним тиском, Cyp2J2 відіграє центральну роль у регуляції ниркової канальцевої рідини та електролітного транспорту. Отже, гіпертонія є результатом взаємодії різноманітних молекулярних, метаболічних та генетичних процесів [38].

Гіпертензія супроводжується розвитком ультраструктурних змін у кардіоміоцитах щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією лінії СІСАГ, є ознаки пошкоджень ультраструктури ядер, скоротливого та енергетичного апаратів. Дезінтеграція міофібрил призводить до пошкоджень вставних дисків. У мітохондріях відбуваються як компенсаторно-адаптаційні, так і дистрофічно-деструктивні процеси. Мітохондрії невпорядковано розташовуються по цитоплазмі, різняться за розмірами, набувають неправильної форми, гіпертрофовані, набряклі. Канальці саркоплазматичної сітки та Т-системи характеризуються мозаїчністю, головним чином, за своїми розмірами: від невеликих до розширених канальців. Має місце порушення ультраструктури гемомікроциркуляторного русла з розвитком гіпоксії та змінами

трофіки міокарда. Зміни ультраструктури міокарда свідчить про значні порушення в усіх органелах міокарда з розвитком не тільки морфологічних ушкоджень, але і функціональних. Це зумовлює погіршення не тільки трофіки міокарда, але і обміну речовин у цьому органі, що призводить до порушення гемодинаміки, розвитку серцевої недостатності. Численні лікарські засоби впливають на ультраструктуру міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією. У щурів із САГ збільшується чисельність ядер кардіоміоцитів і понижується в цих структурах концентрація РНК. Біпролол, лізиноприл, карведилол, кверцетин і тіотриазолін сприяють певній нормалізації ультраструктури міокарда. Біпролол та тіотриазолін знижують щільність ядер у міокарді. Сумісне застосування біпрололу із кверцетином та тіотриазоліном, а також лізиноприлу і карведилолу з даними метаболітними препаратами викликає більш виражену дію на ультраструктуру міокарда в щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією [3, 4, 6–8].

Висновки

1. Аналіз факторів, що сприяють підвищенню артеріального тиску, дозволить проводити диференційований підбір адекватної моделі артеріальної гіпертензії.
2. Адекватні моделі артеріальної гіпертензії дозволять отримати нові дані щодо патогенезу, встановити особливості механізму підвищення артеріального тиску, а також стануть у нагоді при розробці ефективних методів фармакотерапії даної патології.
3. Вибір та застосування адекватної моделі артеріальної гіпертензії сприятиме підвищенню ефективності доклінічного вивчення нових лікарських засобів, призначенню за новими показаннями відомих препаратів, а також створенню раціональних комбінацій препаратів.

1. *Амосова Е. Н*. Фармакологическое снижение риска развития сердечно-сосудистых событий и инсультов при артериальной гипертензии: как сделать правильный выбор? / Е. Н. Амосова, Г. В. Дзяк // Здоров'я України.– 2006.– Т. 8, № 141.– С. 16–17.
2. *Будников Е. Ю.* Синтетическая АТФ-синтезирующая способность миохондрий печени спонтанно гипертензивных крыс (SHR) роль кальциевой перегрузки митохондрий / Е. Ю. Будников, А. Ю. Постнов, А. Д. Дорощук [и др.] // Кардиология.– 2002.– Т. 42, № 12.– С. 47–50.
3. *Довгань Р. С*. Вплив біпрололу та метаболітних препаратів на ультраструктуру міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією / І. С. Чекман, Р. Довгань, Л. О. Стеченко, Т. П. Куфтирева // Наук. вісн. нац. мед. університету ім. О. О. Богомольця.– 2008.– № 2.– С. 40–49.
4. *Довгань Р. С*. Порівняльна морфометрична оцінка ефективності впливу біпрололу та його комбінації з препаратами метаболічного плану на кардіоміоцити щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією / Стеченко Л. О., Куфтирева Т. П.,Чекман І. С. // Вісн. морфології.– 2009.– Т. 15, № 1.– С. 1 – 4.
5. Доклинические исследования лекарственных средств (методические рекомендации); Под ред. А. В. Стефанова.– К.: Авиценна, 2002.– 568 с.
6. *Загородний М. І.* Вплив карведилолу на патоморфологічні та гістохімічні зміни міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією / М. І. Загородний, Н. А. Колесова, А. С. Свінціцький [та ін.] // Науковий вісник Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.– 2009.– № 25.– С. 112–115.
7. *Загородний М. І.* Зміни ультраструктури міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією під впливом тіотріазоліну / М. І. Загородний, Л. О. Стеченко, Т. П. Куфтирева [та ін.] // Науковий вісник Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.– № 1.– 2009.– С. 25–28.
8. *Загородний М. І.* Вплив кверцетину на ультраструктуру міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією / М. І. Загородний, Л. О. Стеченко, Т. П. Куфтирева, А. С. Свінціцький // Науковий вісник Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.– № 4.– 2009.– С. 34–38.
9. *Тарасова К. В*. Комплексний вплив активаторів і блокаторів мембранних каналів на показники гемодинаміки щурів з нормальним артеріальним тиском та зі спонтанною артеріальною гіпертензією / К. В. Тарасова, І. М. Карвацький, В. Г. Шевчук [та ін.] // Фізіологічний журнал.– 2004.– Т. 50, № 4.– С. 117–122.
10. *Чекман І. С*. Кардіопротектори – клініко-фармакологічні аспекти / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, С. Б. Французова // Укр. мед. часопис.– 2003.– Т. 6, № 38.– С. 18–25.

11. *Чекман І. С*. Спонтанна артеріальна гіпертензія у щурів: патогенетичні механізми розвитку / І. С. Чекман, Я. М. Корнейкова, Р. С. Довгань // Ліки.– 2007.– № 1–2.– С. 10–15;
12. *Штерлин М. Д.* Стереоморфологическое исследование органов-мишеней у крыс с наследственной артериальной гипертензией в разные периоды постнатального онтогенеза при изменении условий вскармливания / М. Д. Штерлин, И. И. Бузуева, И. М. Коростаевская [и др.] // Морфология.– 2005.– Т. 128, № 4.– С. 85–89.
13. *Aleixandre de Artinano A*. Experimental rat models to study the metabolic syndrome / A. Aleixandre de Artinano, M. Miguel Castro // Br. J. Nutr.– 2009.– V. 102, № 9.– P. 1246–1253.
14. *Bailey E. L*. Is the spontaneously hypertensive stroke prone rat a pertinent model of sub cortical ischemic stroke? A systematic review / E. L. Bailey C. Smith, C. L. Sudlow [et al.] // Int. J. Stroke.– 2011.– V. 6, № 5.– P. 434–444.
15. *Bechtold A. G.* Chronic blockade of hindbrain glucocorticoid receptors reduces blood pressure responses to novel stress and attenuates adaptation to repeated stress / A. G. Bechtold, G. Patel, G. Hochhaus [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.– 2009.– V. 296, № 5.– P. 1445–1454.
16. *Beltin J.* Calcium – activated potassium channels and NO regulate human peripheral conduit artery mechanic / J. Beltin, R. Joannides, M. Iakob [et al.] // Hypertension.– 2005.– V. 46, № 1.– P. 210–216.
17. *Bishop J. E*. Raised blood pressure, not renin-angiotensin systems, causes cardiac fibrosis in TGR m(Ren2)27 rats / J. E. Bishop, L. A. Kiernan, H. E. Montgomery // Cardiovasc. Res.– 2000.– V. 47, № 1.– P. 57–67.
18. *Bogaard H. J*. Adrenergic receptor blockade reverses right heart remodeling and dysfunction in pulmonary hypertensive rats / H. J. Bogaard, R. Natarajan, S. Mizuno [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care. Med.– 2010.– V. 182, № 5.– P. 652–660.
19. *Bohlender J*. Height human rennin hypertension in transgenic rats / J. Bohlender, A. Fukamizu, A. Lippoidt [et al.] // Hypertension.– 1997.– V. 29.– P. 428–439.
20. *Channa M. L*. Facets of the metabolic syndrome in Dahl hypertensive rats / M. L. Channa, L. Somova, A. Nadar // Cardiovasc. J. S. Afr.– 2004.– V. 15, № 2.– P. 61–63.
21. *Brilla C. G.* Advanced hypertensive heart disease in spontaneously hypertensive rats. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis / C. G. Brilla, L. Matsubara, K. T. Weber // Hypertension.– 1996.– V. 28, № 2.– P. 269–275.
22. *Del Corsso C.* Cell therapy in dilated cardiomyopathy: from animal models to clinical trials / C. Del Corsso, A. C. Campos de Carvalho // Braz. J. Med. Biol. Res.– 2011.– V. 44, № 5.– P. 388–393.
23. *Delles C*. Genetics of hypertension: from experimental animals to humans / C. Delles, M.W. McBride, D. Graham // Biochim. Biophys. Acta.– 2010.– V. 1802, № 12.– P. 1299–1308.
24. *Dornas W. C*. Animal models for the study of arterial hypertension / W. C. Dornas, M. E. Silva // J. Biosci.– 2011.– V. 36, № 4.– P. 731–737.
25. *Fregly M. J*. Prevention of DOCA-induced hypertension in rats by chronic treatment with tryptophan / M. J. Fregly, D. C. Fater // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.– 1986.– V. 13, № 11–12.– P. 767–776.
26. *Ganten D*. Species specificity of renin kinetics in transgenic rats harboring the human renin and angiotensinogen genes / D. Ganten, J. Wagner, K. Zeh [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 1992.– V. 89, № 16.– P. 7806–7810.
27. *Henning E. C.* Hypertension-induced vascular remodeling contributes to reduced cerebral perfusion and the development of spontaneous stroke in aged SHRSP rats / E. C. Henning, S. Warach, M. Spatz // J. Cereb. Blood Flow Metab.– 2010.– V. 30, № 4.– P. 827–836.
28. *Herrera V. L*. Chlamydia pneumoniae accelerates coronary artery disease progression in transgenic hyperlipidemia-genetic hypertension rat model / V. L. Herrera, L. Shen, L. V. Lopez [et al.] // Mol. Med.– 2003.– V. 9, № 5–8.– P. 135–142.
29. *Hughes J. M*. Influence of experimental reduction of arterial media: lumen ratio on agonist-stimulated contractions in hypertension / J. M. Hughes, S. J. Bung // Journal of Hypertension.– 2004.– V. 22, № 3.– P. 519–527.
30. *Jankowski M.* Cardiac oxytocin receptor blockade stimulates adverse cardiac remodeling in ovariectomized spontaneously hypertensive rats / M. Jankowski, D. Wang, B. Danalache [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.– 2010.– V. 299, № 2.– P. 265–274.
31. *Kumarasamy S.* Mitochondrial polymorphisms in rat genetic models of hypertension / S. Kumarasamy, K. Gopalakrishnan, A. Shafton // Mamm. Genome.– 2010.– V. 21, № 5 – 6.– P. 299–306.
32. *Lamarre-Cliche M*. Effects of circadian rhythms posture and medications on renin-aldosterone interrelations in essential hypertensive / M. Lamarre-Cliche, J. Champlain, Y. Lacourciere [et al.] // American Journal of Hypertension.– 2005.– V. 18, № 1.– P. 56–63.
33. *Liu Q*. The exenatide analogue AC3174 attenuates hypertension, insulin resistance, and renal dysfunction in Dahl salt-sensitive rats / Q. Liu, L. Adams, A. Broyde [et al.] // Cardiovasc. Diabetol.– 2010.– V. 9.– P. 32.
34. *Marques C.* Glutamine prevents gastric oxidative stress in an animal model of portal hypertension gastropathy / C. Marques, J. L. Mauriz, D. Simonetto // Ann. Hepatol.– 2011.– V. 10, № 4.– P. 531–539.
35. *Maxova H.* Recovery from hypoxic pulmonary hypertension in rats / H. Maxova, A. Banasova, V. Povysilova // Acta Medica (Hradec Kralove).– 2011.– V. 54, № 2.– P. 73–75.
36. *McCarthy C. A*. Angiotensin AT2 receptor stimulation causes neuroprotection in a conscious rat model of stroke / C. A. McCarthy, A. Vinh, J. K. Callaway [et al.] // Stroke.– 2009.– V. 40, № 4.– P. 1482–1489.

37. *Nolan T*. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR / T. Nolan, R. E. Hands, S. A. Bustin // Nat Protoc.– 2006.– V. 1, № 3.– P. 1559–1582.
38. *Puig O*. Transcriptome profiling and network analysis of genetically hypertensive mice identifies potential pharmacological targets of hypertension // O. Puig, I. M. Wang, P. Cheng [et al.] // Physiol. Genomics.– 2010.– V. 42, № 1.– P. 24–32.
39. *Rimbaud S.* Resveratrol improves survival, hemodynamics and energetics in a rat model of hypertension leading to heart failure / S. Rimbaud, M. Ruiz, J. Piquereau [et al.] // PLoS One.– 2011.– V. 6, № 10.– e26391.
40. *Rodriguez-Perez A. I.* Renin angiotensin system and gender differences in dopaminergic degeneration / A. I. Rodriguez-Perez, R. Valenzuela, B. Joglar [et al.] // Mol. Neurodegener.– 2011.– V. 6, № 1.– P. 58.
41. *Rosales M. A*. Exogenous SOD mimetic tempol ameliorates the early retinal changes reestablishing the redox status in diabetic hypertensive rats / M. A. Rosales, K. C. Silva, J. B. Lopes de Faria // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.– 2010.– V. 51, № 8.– P. 4327–4336.
42. *Rubezinska A.* Calcimetic NPSR-568 induces hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats / A. Rubezinska, K. Bobluvski, A. Lehmann [et al.] // American Journal of Hypertension.– 2005. –V. 18, № 3.– P. 364–371.
43. *Sano M*. Association study of calcitonin-receptor-like receptor gene in essential hypertension / M. Sano, N. Kuzoi, T. Nakayama [et al.] // American Journal of Hypertension.– 2005.– V. 18, № 3.– P. 403–408.
44. Soskic S. S. Regulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and its potential role in insulin resistance, diabetes and heart failure // S. S. Soskic, B. D. Dobutovic, E. M. Sudar // Open Cardiovasc. Med. J.– 2011.– V. 5.– P. 153–163.
45. *Thoene-Reineke C.* Prevention and intervention studies with telmisartan, ramipril and their combination in different rat stroke models // C. Thoene-Reineke, K. Rumschussel, K. Schmerbach [et al.] // PLoS One.– 2011.– V. 6, № 8.– e23646.
46. *Uluc K.* Focal cerebral ischemia model by endovascular suture occlusion of the middle cerebral artery in the rat / K. Uluc, A. Miranpuri, G. C. Kujoth // J. Vis. Exp.– 2011.– V. 48.– doi: 10.3791/1978.
47. *Wigestrand M. B*. Decreased $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptor number in the absence of mRNA changes suggests post-transcriptional regulation in the spontaneously hypertensive rat model of ADHD // M. B. Wigestrand, Y. S. Mineur, C. J. Heath [et al.] // J. Neurochem.– 2011.– V. 119, № 1.– P. 240–250.
48. *Ying W. Z*. Enhanced expression of EGF receptor in a model of salt-sensitive hypertension / W. Z. Ying, P. W. Sanders // Am. J. Physiol. Renal. Physiol.– 2005.– V. 289, № 2.– P. 314–321.
49. *Zarzuelo M. J.* Antihypertensive effects of peroxisome proliferator-activated receptor-{beta} activation in spontaneously hypertensive rats / M. J. Zarzuelo, R. Jim?nez, P. Galindo // Hypertension.– 2011.– V. 58, № 4.– P. 733–743.
50. *Zopf D. A.* C-122, a novel antagonist of serotonin receptor 5-HT(2B), prevents monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats / D. A. Zopf, L. A. Neves, K. J. Nikula [et al.] // Eur. J. Pharmacol.– 2011.– V. 670, № 1.– P. 195–203.

И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, Е. А. Нагорная, Т. И. Нагорная, М. И. Загородний, Р. С. Довгань

Экспериментальные модели артериальной гипертензии

В обзорной статье излагаются современные представления об экспериментальных моделях артериальной гипертензии, включая различные типы спонтанной артериальной гипертензии у крыс, модель экспериментальной гипертензии, которую вызывают добавлением к еде NaCl. Дана сравнительная характеристика представленных моделей.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, экспериментальные модели, спонтанно гипертензивные крысы

I. S. Chekman, N. A. Gorchakova, E. A. Nagornaya, T. I. Nagornaya, M. I. Zagorodniy, R. S. Dovgan

Experimental models of arterial hypertension

In a rewiew outlines the modern concepts about experimental models of arterial hypertension including different types of spontaneous arterial hypertension in rats, models that are provoking by NaCl addition to the meals and others. The comparative characteristics of proposed models is given.

Key words: arterial hypertension, experimental models, spontaneously hypertensive rats

Надійшла: 20.01.2012 р.

Контактна особа: Чекман І. С., завідувач кафедри фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ. Тел.: (44) 454-49-24.

УДК:616.831-005.4:612.13:547.859.1

Н. О. Семененко[1], Г. І. Степанюк[1], Н. Г. Чорноіван[1],
Д. Ю. Скорина[2], С. І. Коваленко[2], О. П. Драчук[1]

Вплив похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (сполук DSK-38 та DSK-39) на церебральну гемодинаміку за умов експериментального постреперфузійного ішемічного враження головного мозку

[1]Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова
[2]Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: церебральна ішемія-реперфузія, гемодинаміка, похідні 4-оксо(аміно-)хіназоліну, вінпоцетин

Згідно з сучасними уявленнями, єдиним медикаментозним заходом, ефективність якого достовірно доведена у хворих з гострим порушенням мозкового кровообігу (ГПМК) за ішемічним типом, є тромболітична терапія [9, 10]. Ураховуючи це, новітні підходи до лікування інфаркту мозку включають проведення терапевтичної реперфузії (тромболізису) за допомогою фібриноселективних тромболітиків – зокрема, рекомбінантного тканинного активатора плазміногену (rt-PA) (актилізе, альтеплаза) [15, 16, 19]. За умов точної верифікації ішемічного інсульту в перші 3 год після виникнення церебрального тромбозу та відсутності протипоказань тромболізис дає найкращі шанси на сприятливий прогноз [5. 7, 20]. Разом із цим, тромболізис має низку абсолютних протипоказань, а саме: підозри на геморагічний інсульт, пухлини та абсцеси мозку, аневризма, черепно-мозкова травма чи інсульт упродовж останніх трьох місяців, бактеріальний ендокардит, гіпокоагуляція на фоні застосування антикоагулянтів [2, 14, 17]. Однак у більшості випадків хворим з ГПМК не завжди намагаються проводити реваскуляризацію затромбованої судини [12]. Це зумовлено несвоєчасною госпіталізацією хворих у спеціалізоване нейрореанімаційне відділення, наявністю абсолютних протипоказань, відсутністю обладнання та кваліфікованого персоналу та значною собівартістю самих заходів [4, 5]. Ураховуючи складність діагностики та проведення методів реканалізації інфарктзалежної церебральної судини, стає очевидним, що успішна реперфузія можлива в небагатьох випадках і лише у великих спеціалізованих клініках [3, 8].

Проте навіть рання реканалізація пошкодженої судини далеко не завжди виправдовує сподівання лікарів, оскільки часто після відновлення прохідності враженої судини виникають реперфузійні пошкодження нейронів, формується синдром невідновленого кровообігу «no-reflow» [12]. Унаслідок цього, в окремих випадках реканалізація призводить до трансформації ішемічного інсульту на геморагічний, що призводить до ще більшого пошкодження головного мозку [18].

Таким чином, повноцінне доповнення інтенсивної терапії ГПМК проведенням тромболізису не завжди є можливим [10, 13, 21]. Наведені дані вказують на необхідність уведення церебропротекторів до схеми лікування хворих з ГПМК, що дозволяє подовжити період «терапевтичного вікна» та створює захист від подальшого реперфузійного пошкодження тканин мозку.

У попередніх скринінгових дослідженнях церебропротекторної активності в ряду нових похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну нами було виявлено дві сполуки

© Колектив авторів, 2012

(DSK-38 та DSK-39) із захисною дією на ішемізований головний мозок, що проявилася зниженням показника летальності тварин з ГПМК (двобічна оклюзія загальних сонних артерій). Згідно з даними літератури, у механізмі церебропротекторного ефекту сполук цього ряду чільне місце посідає їхня спроможність стимулювати кровопостачання мозку [11].

Мета роботи – вивчення впливу речовин із лабораторними шифрами DSK-38 та DSK-39 на церебральну гемодинаміку за умов ішемії-реперфузії головного мозку. Це дозволить з'ясувати перспективність їхнього подальшого дослідження як церебропротекторів, зокрема, і у випадку постреперфузійного пошкодження нейронів.

Матеріали та методи. Досліди проведено на 40 білих щурах-самцях масою 160–170 г. Кровопостачання головного мозку в щурів з однобічною каротидною ішемією-реперфузією реєстрували за допомогою ультразвукового флоуметра T-106 (Transonik Systems Inc., США). Під наркозом (пропофол 60 мг/кг внутрішньоочеревинно в/о) на праву внутрішню сонну артерію накладали датчик, після стабілізації об'ємної швидкості мозкового кровообігу (ОШМК) визначали її вихідний рівень. Залишаючи датчик на судині, проксимальніше накладали лігатуру на 40 хв. Після зняття лігатури через 1 год щурам групи контрольної патології в/о вводили ізотонічний розчин NaCl, тваринам трьох інших груп – відповідно сполуки DSK-38 та DSK-39 (обидві – в оптимальних за попередніми дослідженнями дозах 10 мг/кг) і вінпоцетин (Кавінтон, Gedeon Richter, Угорщина) у дозі 5 мг/кг. Реєстрацію кровотоку у внутрішній сонній артерії проводили в динаміці реперфузії: перший раз через 24 год від початку терапії, а далі відповідно через 48 год та 72 год.

Статистичну значущість міжгрупових відмінностей визначали за критерієм t-Стьюдента, внутрішньогрупових – за парним критерієм Вілкоксона. Зміни показників вважали достовірними при $P \leq 0,05$ [6].

Результати та їх обговорення. Проведене дослідження показало, що в щурів контрольної групи через добу після оклюзії та подальшої реперфузії внутрішньої сонної артерії каротидний кровотік знизився в середньому на 51,5 %. У подальшому, на 2 та 3 добу спостереження відмічалася тенденція до ще більшого погіршення кровопостачання головного мозку – показник ОШМК був у середньому відповідно на 56,4 та 65,4 % меншим відносно вихідного рівня (таблиця).

Отримані результати співпадають із даними інших дослідників (Щокіна К. Г., 2011 р.) стосовно гемодинамічних змін в інфаркт-залежній судині після її реканалізації та вказують на те, що відновлення кровопостачання у внутрішній сонній артерії через 40 хв після її оклюзії супроводжується розвитком синдрому «no-reflow». На думку багатьох дослідників [2, 7, 10], саме така постішемічна редукція церебрального кровотоку є поштовхом до активації в головному мозку процесів оксидативного стресу, дискоординації циклу Кребса, запуску механізмів апоптотичної загибелі нейронів.

Лікувальне окреме введення вінпоцетину та досліджуваних похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну сприяло (хоча й у різній мірі) відновленню кровопостачання в реперфузованій ділянці внутрішньої сонної артерії. Найвиразніший стимулюючий вплив на мозковий кровотік було відмічено на тлі застосування вінпоцетину та сполуки DSK-38 (таблиця). Так, окреме, упродовж перших 3-х діб після реперфузії, введення цих речовин, забезпечило в кінці експерименту вірогідний приріст показника ОШМК відносно контролю в середньому на 48,2 та 56,2 %, що на 9,1 та 17,2 % менше відповідних вихідних рівнів. За спроможністю протидіяти розвитку синдрому «no-reflow» через 72 год після реферфузії сполука DSK-38 за своєю ефективністю практично не поступалась референс-препарату.

Дещо менший стимулюючий вплив на церебральну гемодинаміку за умов даного патологічного стану було відмічено на тлі лікувального введення іншого похідного 4-оксо(аміно-)хіна-

Таблиця

Об'ємна швидкість кровотоку у внутрішній сонній артерії щурів з ішемією-реперфузією головного мозку на тлі курсового роздільного введення сполук DSK-38, DSK-39 та вінпоцетину (M±m)

Термін спостереження, год	Контрольна патологія		DSK-38 (10 мг/кг в/о)		DSK-39 (10 мг/кг в/о)		Вінпоцетин (5 мг/кг в/о)	
	мл/хв	зміни, %	мл/хв	зміни, %	мл/хв	зміни, %	мл/хв	зміни, %
Вихідний стан								
–	10,88± 0,30	–	10,83± 0,29	–	10,69± 0,20	–	10,73± 0,27	
Ішемія 40 хв + реперфузія								
24 год	5,28± 0,24*	–51,5	8,21± 0,24*	–24,2	6,71± 0,17*•	–37,2	9,06± 0,28*	–15,6
48 год	4,74± 0,23*	–56,4	8,62± 0,25*•	–20,4	7,02± 0,18*•	–34,3	9,57± 0,27*	–10,8
72 год	3,77± 0,16*	–65,4	8,97± 0,26*	–17,2	7,35± 0,19*•	–31,2	9,75± 0,28*	–9,1

*Примітка. 1) *P ≤ 0,05 відносно відповідного вихідного стану; • P ≤ 0,05 відносно вінпоцетину; 2) кількість спостережень – n = 10 у кожній групі.*

золіну – сполуки DSK-39. Її курсове триденне уведення в організм щурів з ГПМК сприяло вірогідному збільшенню кровопостачання в інфаркт-залежній судині порівняно з контрольними тваринами в середньому відповідно на 34,2 %, що на 22,1 % менше порівняно з ефектом препарату порівняння ($P < 0,05$).

Таким чином, результати проведеного дослідження показали, що похідним 4-оксо(аміно-)хіназоліну – сполукам під шифром DSK-38 та DSK-39 у дозі 10 мг/кг в/о, як і вінпоцетину (5 мг/кг в/о), на моделі ішемії-реперфузії внутрішньої сонної артерії в щурів притаманний стимулюючий вплив на кровопостачання головного мозку при їхньому лікувальному введенні тваринам протягом 3 діб. При цьому, за ефективністю, сполука DSK-38 за умов експерименту співставлялася з референс-препаратом. Властивість досліджуваних речовин перешкоджати виникненню синдрому «no-reflow», на нашу думку, може бути важливою складовою їхньої церебропротекторної дії на ішемізований мозок та вказує на перспективність подальших досліджень механізмів їхньої захисної дії саме за умов постреперфузійного пошкодження головного мозку.

Доцільно дослідити вплив DSK-38 на біоенергетичні процеси в ішемізованому мозку.

Висновки

1. Модель 40-хвилинної ішемії головного мозку в наркотизованих щурів (однобічна каротидна оклюзія) з подальшою реперфузією супроводжується більш ніж дворазовим зменшенням базального кровопостачання головного мозку в каротидному басейні, що зумовлює розвиток синдрому «no-reflow».
2. За умов експерименту лікувальне 3-разове (упродовж перших 72 год після реканалізації) уведення похідного 4-оксо(аміно-)хіназоліну – сполуки DSK-38 (10 мг/кг в/о) збільшує кровообіг у внутрішній сонній артерії на рівні вінпоцетину (5 мг/кг в/о).
3. Спроможність досліджуваної сполуки покращувати церебральну гемодинаміку за умов ГПМК може бути одним із механізмів церебропротекторної дії сполуки DSK-38.

1. Зміни вмісту інтерлейкіну-1 під впливом рекомбінантного рецепторного антагоніста при ішемічному та алкогольному ураженні головного мозку / К. Г. Щокіна, С. Ю. Штриголь, С. М. Дроговоз [та інш.] // Клінічна фармація.– 2011.– Т. 15, № 3.– С. 39–43.
2. *Зозуля И. С.* Медицина неотложных состояний / И. С. Зозуля.– К.: Медицина, 2008.– 696 с.
3. Исмагилов М. Ф. Ишемический мозговой инсульт: терминология, эпидемиология, принципы диагностики, патогенетические подтипы, терапия острого периода заболевания / М. Ф. Исмагилов // Неврологический вестник.– 2005.– № 1–2.– С. 67–76.
4. *Йолтуховский В. М.* Организация помощи пациентам с острыми нарушениями мозгового кровообращения в Германии. Менеджмент в остром периоде инсульта: ключевые элементы эффективности / В. М. Йолтуховский // Практ. ангіологія.– 2008.– № 1/1.– С. 27–28.
5. *Касте М.* Как улучшить качество медицинской помощи больным с инсультом в общенациональном масштабе? Опыт Финляндии / Касте М. // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Инсульт (приложение к журналу).– 2003.– № 9.– С. 65–68.
6. *Лапач С. Н.* Статистика в науке и бизнесе: практическое руководство / С. Н. Лопач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич.– К. : Морион, 2002.– 640 с.
7. *Молчанов Д.* Лечение мозгового инсульта: на пути к полному использованию возможностей терапевтического окна / Д. Молчанов // Здоров'я України.– 2009.– № 1–2.– С. 12–15.
8. Новые направления коррекции повышенного внутричерепного давления у пациентов с острой церебральной недостаточностью / В. И. Черний, А. Н. Колесников, Г. А. Городник [и др.] // Медицина неотложных состояний.– 2008.– № 3 (16).– С. 2–4.
9. Рекомендации по раннему лечению ишемического инсульта у взрослых (2007). Рекомендации Американской ассоциации сердца / Американской ассоциации инсульта (AHA/ASA) // Практична ангіологія.– 2008.– № 1/1.– С. 46–55.
10. *Трошин В. Д.* Острые нарушения мозгового кровообращения: руководство / В. Д. Трошин, А. В. Густов.– [3-е изд., перераб. и доп.].– М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006.– 432 с.
11. *Ходаківський О. А.* Нейропротекторна дія похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії головного мозку. Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. Фармакологія / Ходаківський О. А.– К., 2009.– 21 с.
12. *Царенко С. В.* Нейрореаниматология. Интенсивная терапия черепно-мозговой травмы / С. В. Царенко.– М.: Медицина, 2006.– 352 с.
13. *Шведський В. В.* Сучасна церебропротекторна терапія гострих порушень мозкового кровообігу при цукровому діабеті та шляхи її оптимізації / В. В. Шведський, С. Ю. Штриголь, О. А. Ходаківський // Клінічна фармація.– 2011.– Т. 15, № 2.– С. 7–12.
14. *Govan L.* The prevention of complication may explain the survival benefit of organized (stroke unit) care: a secondary analysis of a systematic review / L. Govan, P. Langhorne, C. Weir / Cerebro-vasc. Dis. Abstracts 15th European Stroke Conference.– 2006.– V. 21.– P. 52.
15. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: a scientific statement from the Stroke Council of the American Stroke Association / H. P. Adams, R. J. Adams, T. Brott [et al.] // Stroke.– 2008.– V. 34 (4).– H. 1056–1083.
16. *Gzlonkowska A.* Eligibility of stroke units in Poland for administration of intravenous thrombolisis / A. Gzlonkowska, I. Saizinska-Dlugosz, M. Niewada // Eur. J. Neurology.– 2006.– V. 13.– P. 220–224.
17. Leys D. The main components of stroke unit care / D. Leys, E. Ringelstein, M. Kaste // Cerebrovasc. Dis – 2007.– V. 23.– P. 465.
18. Low-grade inflammation is a risk factor clinical stroke events in addition to silent cerebral infarcts in Japanese older hypertensives / J. Ishikawa, Y. Tamura, S.Hoshide [et al.] // The Jichi Medical. School ABPM Study, Wave 1. Stroke.– 2007.– № 38.– P. 911–917.
19. *Micieli G.* Safety and efficacy of alteplase in the treatment of acute ischemic stroke / G. Micieli, S. Marcheselli, P. A. Tosi // Vasc. Health Risk Manag.– 2009.– № 5.– P. 397–409.
20. *Rha J-H.* The impact of recanalization on ischemic stroke outcome: a meta analysis / J-H. Rha, J. L. Saver // Stroke.– 2007.– V. 38.– P. 967–973.
21. *Secades J.* Citicoline: Pharmacological and Clinical Review, 2006 Update Methods Find Exp / J. Secades, J. Lorenzo // Clin Pharmacol.– 2006.– V. 27 (Suppl. B).– P. 52–56.

Н. А. Семененко, Г. И. Степанюк, Н. Г. Чорноиван, Д. Ю. Скорина, С. И. Коваленко, О. П. Драчук

Влияние производных 4-оксо(амино-)хиназолина (соединений DSK-38 и DSK-39) на церебральную гемодинамику в условиях экспериментального постреперфузионного ишемического поражения головного мозга

Установлено, что у наркотизированных крыс с моделью церебральной 40-минутной ишемии с дальнейшей реперфузией наблюдалось прогрессирующее уменьшение кровотока в бассейне внутренней сонной артерии и развитие синдрома «no-reflow». Курсовое 3-х разовое (на протяжении первых 72 ч постреперфузионного периода) лечебное введение производных 4-оксо(амино-)хиназолина с лабораторными шифрами DSK-38 и DSK-39 в дозах 10 мг/кг внутрибрюшинно способ-

ствовало улучшению кровоснабжения головного мозга в постишемическом периоде на уровне винпоцетина (5 мг/кг внутрибрюшинно). По степени противоишемического ефекта соединение DSK-38 сопоставимо с референс-препаратом.

Ключевые слова: церебральная ишемия-реперфузия, гемодинамика, производные 4-оксо(амино-)хиназолина, винпоцетин

N. O. Semenenko, G. I. Stepanyuk, N. G. Chornoivan, D. U. Skorina, S. I. Kovalenko, O. P. Drachuk

Influence of derivates of 4-oxo(amino)chinazolin (compounds DSK-38 and DSK-39) on cerebral haemodynamics in condition of experimental postreperfusional ischemic violation of the brain

It was established, that rats under anaesthesia with model of 40 minutes cerebral ischemia and further reperfusion had progressive decreasing of blood circulation in region of inner carotid artery and development of syndrome «no-reflow». Course (during first 72 hours of postreperfusion period) treatment of intraperitoneal introduction of derivates of 4-oxo(amino-)chinazolin with laboratoral ciphers DSK-38 and DSK-39 in dose 10 mg/kg influenced to improving of haemodynamics of brain in postischemic period, as same as vinpocetin (5 mg/kg intraperitoneal). Level of antyischemic effect of compound DSK-38 was compared with reference-preparation.

Key words: cerebral ischemia-reperfusion, haemodynamics, derivatives of 4-oxo(amino-)chinazolin, vinpocetin

Надійшла: 25.04.2012 р.

Контактна особа: Степанюк Георгій Іванович, докт. мед. наук, професор, завідувач кафедри фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018. Тел.: (432) 61-14-00.

УДК 615.281.9:616.36:577.151.6

С. І. Анісімова, В. М. Коваленко, Г. М. Шаяхметова, Л. Б. Бондаренко, А. В. Матвієнко

Вплив протитуберкульозних засобів на рівень експресії мРНК деяких ізоформ цитохрому Р-450 у печінці щурів

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

Ключові слова: протитуберкульозні засоби, ізоформи цитохрому Р-450 CYP2E1, CYP3A2, CYP2C23, печінка, щури

Однією з найважливіших проблем фармакотерапії є взаємодія лікарських засобів за умов одночасного застосування кількох препаратів. Найчастіше має місце фармакокінетична взаємодія, зокрема, на рівні метаболізму за участі цитохрому Р-450, що призводить до зменшення терапевтичного ефекту та/або збільшення токсичної дії [1]. Так, особливістю терапії туберкульозу є тривале використання комбінацій з кількох протитуберкульозних лікарських засобів (ПТЛЗ), таких, як, наприклад, ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, стрептоміцин. На даний час залишаються нез'ясованими механізми гепатотоксичності зазначених препаратів, за виключенням ізоніазиду, для якого показана ключова роль токсичних метаболітів [2]. Тому наразі важливим є встановлення ролі метаболічної взаємодії ПТЛЗ у механізмі їхньої токсичної дії на печінку. Це мало б сприяти оптимізації режимів терапії такої небезпечної та поширеної в Україні хвороби як туберкульоз.

Мета роботи – проведення порівняльного дослідження в експерименті на щурах впливу нарізного та сумісного застосування ПТЛЗ – етамбутолу (ЕТ), рифампіцину (РФ), ізоніазиду (ІЗН) та піразинаміду (ПР) на рівень експресії в печінці мРНК ізоформ цитохрому Р-450 (2Е1, 3А, 2С), залучених до метаболізму вказаних препаратів, та рівень патологічних змін у даному органі.

Матеріали та методи. Субстанції ЕТ, ІЗН, РФ та ПР були надані ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод».

У дослідженні використані самці щурів лінії Вістар масою тіла 150–170 г, надані ПП «Біомодельсервіс» (Київ). Щурів утримували в стандартних умовах віварію з вільним доступом до корму та води. План дослідження був розглянутий та схвалений Комітетом з біоетики ДУ «ІФТ НАМНУ», процедури, пов'язані з гуманним поводженням з тваринами та їхнім використанням у експериментах, були дотримані.

За методом рандомізації було сформовано 6 груп по 6 тварин у кожній, яким нарізно або сумісно протягом 60 днів уводили ПТЛЗ внутрішньошлунково в дозах, що застосовують у клініці для короткотермінової комбінованої терапії туберкульозу [3] з урахуванням коефіцієнта видової чутливості [4]: 1 – ЕТ (155 мг/кг), 2 – РФ (74,4 мг/кг), 3 – ІЗН (62 мг/кг), 4 – ПР (217 мг/кг), 5 – сумісно ПТЛЗ (у зазначених вище дозах), 6 – контроль (1 % крохмальний гель).

Через 24 год після останнього введення ПТЛЗ у щурів під легким ефірним наркозом брали кров, піддавали їх евтаназії дислокацією шийних хребців і виділяли печінку для оцінки морфологічного стану та рівня експресії ізоформ цитохрому Р-450 методом зворотно-транскриптазної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

У сироватці крові на біохімічному аналізаторі Prestige 24i (Японія) досліджували активність аланін- та аспартатамінотрансферази (АлАТ та АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), а також уміст загального білірубіну, використовуючи біотести виробництва фірми «P. Z. Cormay» (Польща).

© Колектив авторів, 2012

Для гістологічного дослідження печінки шматочки органу фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну, розчині Карнуа, за стандартною методикою зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації та занурювали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 4–5 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. На заморожених зрізах Суданом чорним В по Ромейсу [5] виявляли нейтральний жир. На нефіксованих зрізах печінки, що готували в кріотомі (–20 °С), виявляли активність СДГ за методом M. Nachlas і співав. [6].

Виділення сумарної мРНК, синтез кДНК та ПЛР проводили як описано раніше [7]. Електрофорез продуктів ПЛР (CYP2E1-744 п.н., CYP2C23-252 п.н., CYP3A2 – 349 п.н. та β-актин-353 п.н.) проводили в 2 % агарозному гелі. Гель забарвлювали розчином бромового етидію, візуалізували в УФ-світлі та фотографували за допомогою системи GelDoc, (BioRaD, США). Кількість мРНК CYP2E1, CYP2C23, CYP3A2 оцінювали за інтенсивністю смуг, використовуючи програму Quantity One BioRad System (США), та представляли у відносних одиницях, які вираховували як відношення вмісту мРНК зазначених ізоензимів до вмісту мРНК референс-гена β-актину.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента і однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Дані представляли як середнє арифметичне значення та похибку середнього арифметичного (M ± m). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично достовірною при значенні $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Було досліджено вплив ПТЛЗ на рівень експресії мРНК, CYP3A2 (ортолог CYP3A4) [8] та CYP2C23 (ортолог CYP2C9 та CYP2C19) [9] у печінці щурів.

Показано, що введення щурам ЕТ призводило до підвищення рівня експресії гена CYP3A2 у печінці піддослідних тварин у 2,3 разу, а РФ та ІЗН у 1,5 разу порівняно з даним показником у печінці контрольних тварин. За сумісного введення ПТЛЗ рівень експресії даної ізоформи цитохрому Р-450 зростав у 1,5 разу (рис. 1).

За даних умов експерименту спостерігали інгібування експресії CYP2C23 за введення ЕТ – у 1,5 разу, ІЗН та ПР – 2,4 разу, а комбінації ПТЛЗ майже в 4 рази (рис. 2). Проте рівень експресії CYP2C23 за умов введення РФ не відрізнявся вірогідно від контролю.

Стосовно CYP2E1 слід зазначити, що рівень його експресії за умов нарізного застосування ПТЛЗ значною мірою варіював: введення ЕТ, ІЗН та РФ призводило до зростання експресії мРНК CYP2E1 відповідно в 4,4; 2,8 та 2,6 разу, а ПР не справляв значного ефекту. Сумісне введення ПТЛЗ призводило до зростання експресії мРНК CYP2E1 у печінці піддослідних щурів у 2,4 разу (рис. 3).

Отримані дані свідчать про відсутність адитивного ефекту стосовно екс-

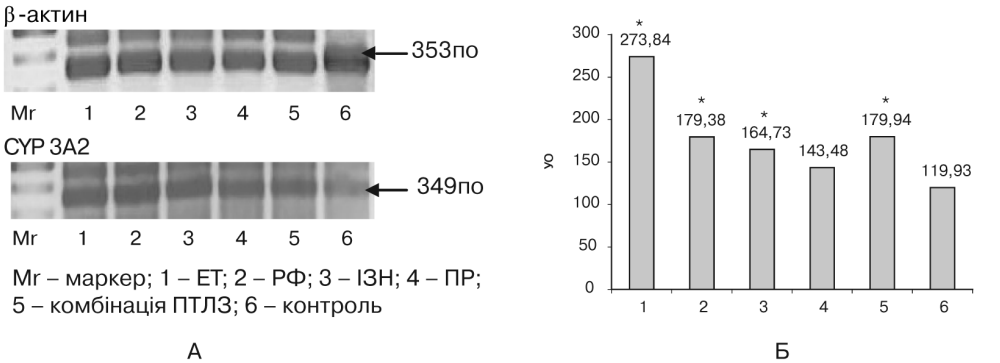

Рис. 1. А) електрофореграма продуктів ПЛР гена CYP3A2 (стрілками вказано ДНК-фрагменти, що відповідають гену зазначеної ізоформи та референс-гену); Б) відносний рівень експресії ізоформи CYP3A2.

*Примітка. Тут та далі: * вірогідні відмінності порівняно з контрольною групою ($P \leq 0,05$); # вірогідні відмінності порівняно з групою щурів, яким уводили ПТЛЗ ($P \leq 0,05$).*

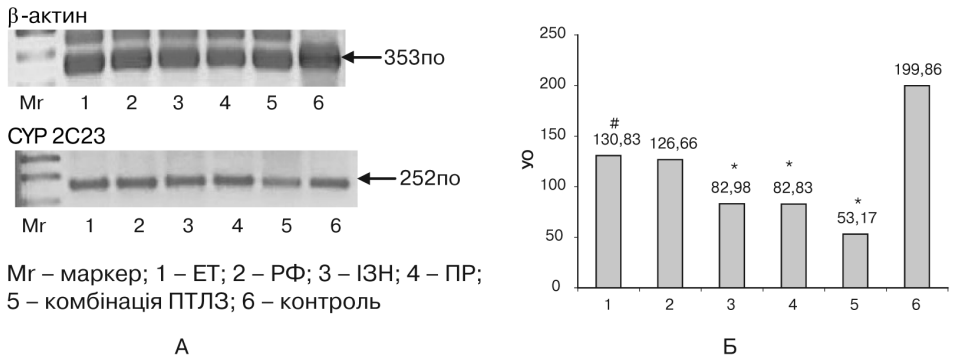

Рис. 2. А) електрофореграма продуктів ПЛР гена CYP2C23 (стрілками вказано на ДНК-фрагменти, що відповідають гену зазначеної ізоформи та референс-гену); Б) відносний рівень експресії ізоформи CYP2C23.

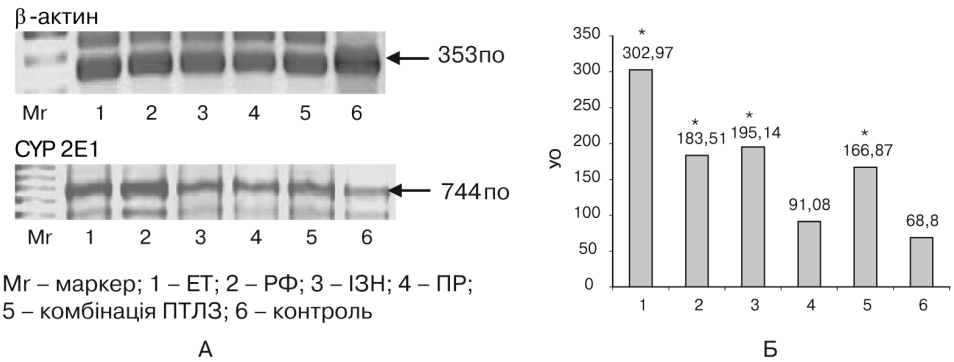

Рис. 3. А) електрофореграма продуктів ПЛР гена CYP2E1 (стрілками вказано на ДНК-фрагменти, що відповідають гену зазначеної ізоформи); Б) відносний рівень експресії ізоформи CYP2E1.

пресії CYP2E1 при введенні комбінації ПТЛЗ, оскільки даний показник був цілком порівнюваним з таким у групах тварин, що отримували ІЗН та РФ, і майже вдвічі нижчим, ніж при введенні ЕТ.

Отримані дані щодо зростання експресії мРНК CYP3A2 при введенні РФ цілком узгоджуються з результатами інших авторів, які довели здатність даного препарату індукувати активність ізозиму CYP3A у гепатоцитах [1, 10]. Ефект ЕТ на рівень експресії CYP3A2 нами показано вперше.

Відомо, що індукція CYP3A відбувається, головним чином, за рахунок зв'язування речовин з орфановим рецептором (pregnane X receptor – PXR), який виконує роль транскрипційного фактора, що активується лігандами [11]. Зокрема, РФ модулює зв'язування PXR-респонсивного елемента з CYP3A промотором [12]. До транскрипційної регуляції CYP3A може бути залучений і конститутивний андростановий рецептор (CAR), респонсивний елемент здатний зв'язуватись з PXR, що свідчить про їхню взаємодію стосовно експресії CYP3A [11].

Оскільки нами не було відзначено зростання експресії CYP3A2 за сумісного введення ПТЛЗ (рис. 1), можна припустити існування конкуренції між РФ та ЕТ за відповідні рецептори. Дані стосовно впливу ІЗН на експресію мРНК CYP2C23 узгоджуються з результатами інших авторів, які показали його здатність інгібувати CYP2C [10]. Щодо ЕТ та ПР, то їхній інгібуючий вплив на експресію генів сімейства CYP2C у печінці щурів нами показано вперше (рис. 2). З точки зору даного дослідження важливо підкреслити, що значне інгібування активності цитохрому CYP2C може призводити до зниження кліренсу препаратів, що вводяться

одночасно, та збільшення їхньої токсичної дії [14].

Серед ізоформ цитохрому Р-450, що експресуються в печінці, однією з найважливіших є CYP2E1, ураховуючи його високу індуцибельність та здатність до продукції активних форм кисню [15]. Отримані результати щодо збільшення кількості мРНК CYP2E1 у печінці за умов уведення ІЗН (рис. 3) цілком узгоджуються з даними щодо можливості активації трансляції гена CYP2E1 даним препаратом [16]. Стосовно РФ, у науковій літературі існують свідчення здатності підвищувати кількість мРНК CYP2E1 та його активність у гепатоцитах людини, але не щурів [17]. Проте нами було показано, що за повторних уведень РФ рівень вмісту мРНК CYP2E1 у печінці щурів зростав практично так само, що й за умов введення відомого індуктора CYP2E1 – ІЗН (рис. 3). Особливої уваги заслуговує той факт, що за умов нарізного введення ЕТ було виявлено збільшення кількості мРНК CYP2E1 порівняно з контролем майже в 4 рази. Відомо, що лише незначна частина ЕТ піддається окисненню в печінці та первинна алкогольна група даної сполуки окиснюється за участі тих самих ензимів, що й в етилового спирта [18]. Подальше окиснення альдегідів до карбоксилової кислоти часто відбувається не тільки за допомогою альдегіддегідрогенази, а в деяких випадках і монооксигеназної системи [19]. Можна припустити, що виявлена нами здатність ЕТ спричиняти підвищення мРНК цитохрому CYP2E1 у печінці реалізується за механізмом, подібним до етилового спирту, а саме – пост-транскрипційної стабілізації молекули зазначеного ізоензиму [15]. Відсутність сумації або потенціювання ефектів ПТЛЗ при сумісному введенні можна пояснити наявністю конкурентної взаємодії ЕТ, ІЗН та РФ з різними ізоформами цитохрому Р-450.

Модуляція експресії генів CYP2E1, CYP3A2 та CYP2C23 за умов сумісного введення ПТЛЗ супроводжувалася порушенням стану печінки. Про це свідчать результати дослідження біохімічних показників сироватки крові щурів, які виявили, що нарізне введення ПТЛЗ не змінювало печінкові проби, окрім дворазового підвищення рівня білірубіну при введенні РФ (таблиця), у той час як за умов сумісного застосування ПТЛЗ відбувалося зростання вмісту загального білірубіну та активності ЛФ порівняно з контролем відповідно в 4,6 та 1,6 разу на тлі незмінених показників активності АлАТ і АсАТ (таблиця). Отримані дані свідчать про розвиток лікарського гепатиту холестатичного типу, що характеризується затримкою жовчі в гепатоцитах та жовчних капілярах [20].

Результати мікроскопічного дослідження печінки показали наявність ознак альтерації гепатоцитів у вигляді їхньої вакуолізації та зернистої дистрофії при введенні ЕТ або ПР. Дистрофічно змінені гепатоцити були виявлені й у 30 % тварин, що отримували комбінацію ПТЛЗ (рис. 4). У печінці більшості щурів цієї групи спостерігали

Таблиця

Біохімічні показники сироватки крові щурів-самців за умов сумісного та нарізного введення ПТЛЗ (M ± m, n = 6)

Експериментальна група	Показники			
	Загальний білірубін, мкмоль/л	ЛФ, МО/л	АлАТ, МО/л	АсАТ, МО/л
Контроль	1,50 ± 0,15	132,43 ± 12,06	57,33 ± 3,5	234,66 ± 22,28
ЕТ	1,76 ± 0,19 #	148,83 ± 23,45 #	65,50 ± 5,50	244,17 ± 18,54
РФ	3,81 ± 0,40* #	133,15 ± 13,62 #	46,67 ± 5,29	183,83 ± 18,07
ІЗН	1,85 ± 1,17 #	125,0 ± 9,36 #	46,33 ± 3,84	240,0 ± 16,06
ПР	1,77 ± 0,14 #	128,93 ± 15,14 #	60,67 ± 7,26	186,80 ± 17,55
Сумісне введення ПТЛЗ	6,96 ± 1,36*	207,76 ± 21,25*	49,20 ± 5,0	234,66 ± 22,28

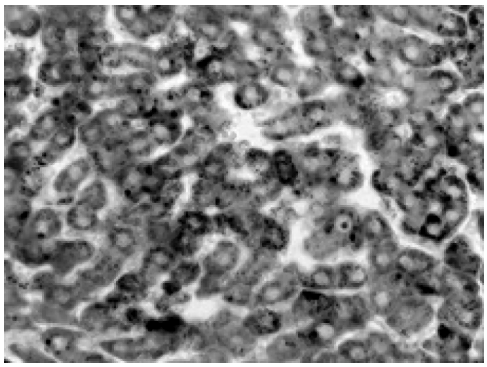

Рис. 4. Збільшена кількість жирових крапель в гепатоцитах навколо міжчасточкових венозних судин за умов сумісного введення ПТЛЗ. Судан чорний. × 400.

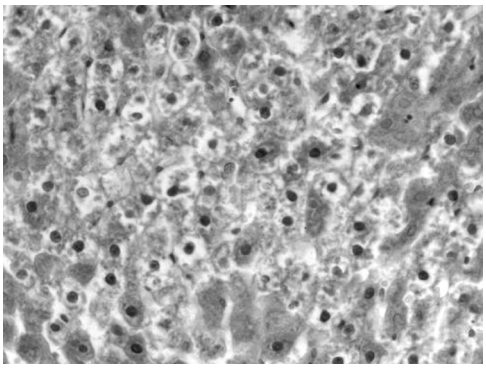

Рис. 5. Дистрофічно змінені гепатоцити за умов сумісного введення ПТЛЗ. Гематоксилін-еозин. × 400.

значну кількість дрібних ліпідних вакуолів (рис. 5). За умов нарізного введення ПТЛЗ інтенсивність гістохімічної реакції на ферменти в печінці щурів не відрізнялася від такої в контролі, але при сумісному застосуванні зустрічалися осередки зі значно ослабленою активністю СДГ, що може свідчити про порушення проникності мембран мітохондрій. За цих умов активувались зірчасті ретикулоендотеліоцити та збільшувалась їхня кількість не тільки в перипортальній, а й у інтермедіарній зоні часточок.

Висновок

Виявлене зростання гепатотоксичності ПТЛЗ за умов їхнього сумісного застосування (дистрофія гепатоцитів, продуктивна запальна реакція, суттєва активація зірчатих ретикулоендотеліоцитів, альтерація паренхіматозних клітин та послаблення активності СДГ печінки, а також зростання активності ЛФ та вмісту загального білірубіну в сироватці крові) цілком може бути наслідком модуляції експресії ізоферментів цитохрому Р-450 та порушення метаболічних процесів у печінці.

1. *Bibi Z.* Role of cytochrome P450 in drug interactions / Z. Bibi // Nutr. Metab.– 2008.– V. 5.– P. 27–36.
2. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review / A. Tostmann, M. J. Boeree, R. E. Aamoutse [et. al.] // Journal of Gastroenteroology and Hepatology – 2008.– V. 23, № 2.– P.192–202.
3. *Donate J. M. B.* Treatment of Tuberculosis / J. M. B. Donate // Business briefing: European Pharmacotherapy.– MWL Print Group Ltd, 2006.– P. 1–4.
4. Food and Drug Administration. Guidance for Industry and Reviewers Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers US. Of Department of Health and Human Services, FDA, CDER and CBER. [Webpage in the Internet].– Available from: http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/02d-0492-gdl0001-vol1.pdf
5. *Ромейс Б.* Микроскопическая техника / Б. Ромейс.– М.: Иностранная литература, 1953.– С. 248–252.
6. *Пирс Э.* Гистохимия / Э. Пирс.– М.: Иностранная литература, 1962.– 962 с.
7. *Анісімова С. І.* Деякі механізми гепатотоксичності етамбутолу у щурів / С. І. Анісімова, В. М. Коваленко, Л. Б. Бондаренко, А. В. Матвієнко // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2011.– № 4(23).– С. 7–11.
8. Ethynilestradiol-mediated induction of hepatic CYP3A9 in female rats: implication for cyclosporine metabolism / W. Jager, M. A. Correia, L. M. Bornheim [et. al.] // Drug Metab. Dispos.– 1999.– V. 27, № 12.– P. 1505–1511.
9. *Imaoka S.* Localization of rat cytochrome P450 in various Tissues and comparison of arachidonic acid metabolism by rat P450 with that by human P450 Orthologs / S. Imaoka, T. Hashizume, Y. Funae // Drug Metab. Pharmacokinet.– 2005.– V. 20, № 6.– P. 478–484.
10. An Official ATS Statement: Hepatotoxicity of Antituberculosis Therapy / J. J. Saukkonen, D. L. Cohn, R. M. Jasmer // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.– 2006.– V. 174.– P. 935–952.
11. *Chen J.* Roles of rifampicin in drug-drug interaction: underlying molecular mechanisms involving the nuclear pregnane X receptor / J. Chen, K. Raymond // annls of Clinical Microbiology and Antimicrobials.– 2006.– V. 5. [Webpage in the Internet].– Available from: http://www.ann.– clinmicrob.com/content/5/1/3

12. *Song X.* The pregnane X receptor binds to response elements in genomic context-dependent manner, and PXR activator rifampicin selectively alters the binding among target genes / X. Song, M. Xie, H. Zhang // Drug. Metab. Dispos.– 2004.– V. 32.– P. 35–42.
13. *Chen Y.* Induction of human CYP2C9 by rifampicin, hyperforin, and phenobarbital is mediated by the pregnane X receptor / Y. Chen, S. S. Ferguson, M. Negishi // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2004.– V. 308.– P. 495–501.
14. *Baillie T. A.* Role of Biotransformation in Drug-Induced Toxicity: Influence of Intra- and Inter-Species Differences in Drug Metabolism / T. A. Baillie, A. E. Rettie // Drug Metab. Pharmacokinet.– 2011.– V. 26, № 1.– P. 15–29.– [Webpage in the Internet].– Available from: http://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/advpub/0/advpub_1010210091/_article
15. *Lieber C. S.* Cytochrome P-4502E1: Its Physiological and Pathological Role / C.S. Lieber // Physiol. Rev.– 1997.– V. 77.– P. 517–544.
16. *Park K. S.* Translational activation of ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP2E1) by isoniazid / K. S. Park, D. H. Sohn, R. L. Veech, B. J. Song // Eur. J. Pharmacol.– 1993.– V. 248, № 1.– P. 7–14.
17. *Yue J.* Does CYP 2E1 play a major role in the aggravation of isoniazid toxicity by rifampicin in human hepatocytes? / J. Yue, R. Reng // Br. J. Pharmacol.– 2009.– V. 157, № 3.– P. 331–333.
18. *Dollery C.* Therapeutic Drugs, 2-Volume Set, 2nd Edition, Churchill Livingstone, London, 1999.– 3184 p.
19. Metabolism, Pharmacokinetics and Toxicity of Functional Groups: Impact of Chemical Building Bloks on ADMET, p. 544, Ed. By Dennis A. Smith, 2010.
20. *Williams G. M*. Alteration of liver cells function and proliferation: differentiation between adaptation and toxicity / G. M. Williams, M. J. Iatropoulos // Toxicol. Pathol.– 2002.– V. 30.– P. 41–53.

С. И. Анисимова, В. М. Коваленко, А. М. Шаяхметова, Л. Б. Бондаренко, А. В. Матвиенко

Влияние противотуберкулезных средств на уровень экспрессии мРНК некоторых изоформ цитохрома Р-450 в печени крыс

Понимание механизмов реализации побочных эффектов противотуберкулезных средств чрезвычайно важно для оптимизации фармакотерапии туберкулеза. В опытах на белых крысах-самцах было проведено сравнительное исследование влияния раздельного и совместного введения этамбутола, рифампицина, изониазида и пиразинамида на уровень экспрессии изоформ CYP2E1, CYP3A2, CYP2C23 в печени и степень патологических изменений в данном органе. Не зафиксировано аддитивного или синергического действия противотуберкулезных средств на экспрессию CYP2E1 и CYP3A2. Выявленное возрастание гепатотоксичности исследуемых препаратов при совместном введении может быть обусловлено значительным ингибированием экспрессии CYP2C23.

Ключевые слова: противотуберкулёзные средства, изоформы цитохрома Р-450 CYP2E1, CYP3A2, CYP2C23, печень, крысы

S. I. Anisimova, V. M. Kovalenko G. M. Shayakhmetova, L. B. Bondarenko, A. V. Matvienko

Influences of antitubercular medicines on some isoforms of cytochrome P-450 mRNA levels expression in rats liver

Understanding of mechanisms for realization of antitubercular medicines adverse effects is extremely important for tuberculosis pharmacotherapy optimization. In experiments with male albino rats comparative investigation of influences of ethambutol, isoniazid, rifampicin and pyrazinamide combined and separate administration on CYP2E1, CYP3A2, CYP2C23 mRNA levels expression in the liver was carried out. Degree of pathological changes in this organ was also evaluated. Additive or synergic action of antitubercular medicines on CYP2E1 and CYP3A2 expression wasn't detected. Revealed increase of investigated co-administered medication hepatotoxicity could be explained by considerable inhibition of CYP2C23 expression.

Key words: antitubercular medicines, isoforms of cytochrome P-450 CYP2E1, CYP3A2, CYP2C23, liver, rats

Надійшла: 14.05.2012 р.

Контактна особа: Шаяхметова Ганна Михайлівна, канд. біол. наук, провідний наук. співроб., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680. Тел.: (44) 456-78-65. E-mail: anna_shayakmetova@yahoo.com

УДК 616.36-002.2:615.322

О. В. Геруш[1], О. Б. Леницька[2], Ю. Б. Лар'яновська[2]

Вплив капсул «Гепафісан» на стан печінки на моделі хронічного гепатиту в щурів

[1]Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці
[2]Національний фармацевтичний університет, Центральна науково-дослідна лабораторія, м. Харків

Ключові слова: хронічний гепатит, гепатопротектор, капсули «Гепафісан»

У клінічній практиці лікар часто зустрічається з хронічними ураженнями печінки. Лікування захворювань печінки, що мають хронічний перебіг, характеризуються тривалим застосуванням комплексу лікарських засобів. Незалежно від причини для корекції функціональних і структурних змін печінки застосовують поряд із базисними лікарськими засобами рослинні гепатопротектори. Багаторічний досвід застосування рослинних гепатопротекторів підтверджує їхню ефективність та добру переносимість [1–3].

У зв'язку з вищевикладеним, викликало інтерес фармакологічне вивчення нового рослинного препарату, капсул «Гепафісан», наступного складу: плоди розторопші, корені кульбаби, листя м'яти, трава бобівника трилистого, квіти нагідок, трава реп'яшка, трава рутки лікарської, як потенційного гепатопротектора, *Мета дослідження* – вивчити вплив капсул «Гепафісан» на стан печінки на моделі хронічного гепатиту в щурів.

Матеріали та методи. Хронічне ураження печінки в щурів викликали введенням тетрахлорметану та етанолу. Сумісне введення зазначених гепатотоксинів потенціює дію один одного й викликає глибоке порушення морфологічного та функціонального стану печінки [4].

Експеримент проведено на 50 білих безпородних щурах масою 180–200 г по 10 тварин у групі. Тварин було розподілено на 5 груп: 1-а – інтактний контроль (ІК), 2-а – позитивний контроль (ПК) – модель хронічного гепатиту, 3-я – тварини, яким уводили капсули «Гепабене» (виробництва фірми «Merkle», Німеччина) у дозі 88 мг/кг. Зазначену дозу розраховували за методом Ю. П. Риболовлева, виходячи з добової дози для дорослої людини [5]. 4-а та 5-я групи – тварини, яким уводили досліджуваний препарат – капсули «Гепафісан» у дозах 54 та 108 мг/кг відповідно (дози встановлені за умов скринінгу).

Хронічний гепатит (ХГ) викликали згідно з методичними рекомендаціями [5] – щурам групи позитивного контролю та дослідних груп внутрішньошлунково вводили 20 % олійний розчин тетрахлорметану в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла 3 рази на тиждень упродовж 45 днів. Паралельно з введенням тетрахлорметану тваринам щодня вводили 5 % розчин етанолу в дозі 0,13 мл/кг. Досліджуваний препарат та референтний препарат уводили тваринам дослідних груп внутрішньошлунково щодня. У дні комбінованого застосування гепатотоксинів гепафісан та гепабене вводили через 1 год після введення тетрахлорметану та етанолу.

На моделі ХГ були проведені гістологічні дослідження морфологічного стану печінки. Для морфологічного дослідження тварин виводили з експерименту декапітацією під ефірним наркозом та висікали ділянки різних зон печінки. Матеріали фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну й заливали в целоїдин-парафін. Зрізи печінки фарбували гематоксиліном та еозином [6]. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим

© Колектив авторів, 2012

фотоапаратом Nicon Col Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nicon View 5.

Результати та їх обговорення. Як показало світлооптичне дослідження, морфологічна структура печінки в щурів групи ІК не змінена. Часточковий малюнок тканини внаслідок практичної відсутності сполучнотканинних прошарків не виразний. Межі часточок визначали за тріадами. Така структура печінки характерна для даного виду тварин (рис. 1).

Після комбінованого введення гепатотоксинів – тетрахлорметану та етанолу (група ПК) – у печінці щурів виникли грубі патологічні зміни: спостерігали переважно перивенулярну, рідше – перипортальну жирову великокрапельну дистрофію та жирову дегенерацію, що поєднувалося з балонною дистрофією та некрозом гепатоцитів. Це свідчило про різке порушення обміну ліпідів, білка, наростання гідратації клітин. Розподіл тварин у межах групи за інтенсивністю патологічних змін був наступним: 25 % щурів мали дуже виразну патологію, 50 % – виразну патологію та 25 % тварин – помірну патологію (табл. 1).

Зони ураження тканин печінки мали нерівні межі, були різні за розміром, у них видно не чисельні збережені гепатоцити, поодинокі ацидофільні клітини, розширені, повнокровні судини, часто – діапедезні крововиливи, плазмодіапедез, багато жирових мікрокист. Клітинна інфільтрація зон ураження досить варіабельна, переважали лімфоїдні та гістіоцитарні клітини. У деяких місцях помічено проникнення клітин інфільтратів вглиб часточок. Практично скрізь відмічали «некротичні містки», які з'єднували між собою зони ураження, унаслідок чого в часточках спостерігали своєрідну мікроскопічну картину – відносно неушкоджені ділянки паренхіми «облямовані» зонами деструкції. Усе це свідчить про активний розвиток патологічного процесу з одночасною його хронізацією. Слід відмітити, що потужність стеатозу не корелювала з виразністю некрозу та клітинною інфільтрацією: при вираженій жировій дегенерації клітинна реакція та некротичні зміни були слабо вираженими (рис. 2 а-в, рис. 3 а-б).

У деяких ділянках паренхіми печінки в зонах деструкції серед клітин інфільтратів були присутні фібробластичні клітини, з'являлися тонкі фуксинофільні волокна або простежувався

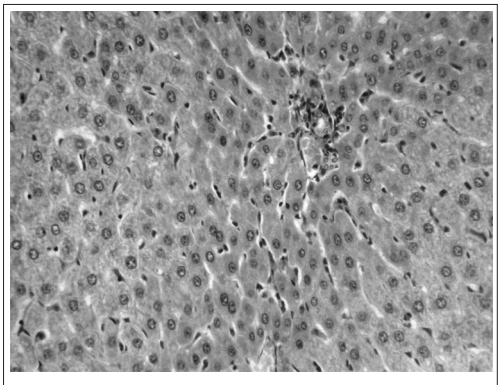

Рис. 1. Печінка інтактного щура. Нормальний стан паренхіми. Гематоксилін-еозин, об. × 250.

Таблиця 1

Розподіл тварин за інтенсивністю патологічного процесу в печінці, %

Умови досліду	Інтенсивність патологічного процесу				
	Дуже слабка	Слабка	Помірна	Виразна	Дуже виразна
Інтактний контроль, n=6	0	0	0	0	0
Контрольна патологія, n=8	0	0	25	50	25
Капсули «Гепафісан», 54 мг/кг, n=5	20	0	60	20	0
Капсули «Гепафісан», 108 мг/кг, n=6	16,67	33,33	33,33	16,67	0
Капсули «Гепабене», 88 мг/кг, n=6	0	0	83,33	I6,67	0

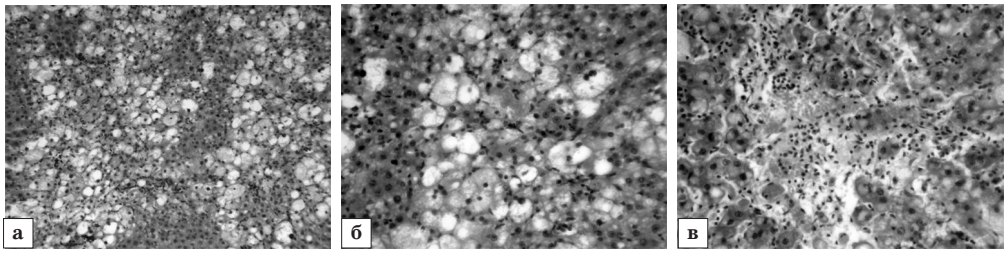

Рис. 2. Печінка щура після введення тетрахлорметану та етанолу: а – зони деструкції «облямовують» збережені ділянки паренхіми; б – перевага проявів стеатозу в осередку деструкції; в – перевага проявів некрозу в осередку деструкції. Гематоксилін-еозин, а – об. × 150; б і в – об. × 250.

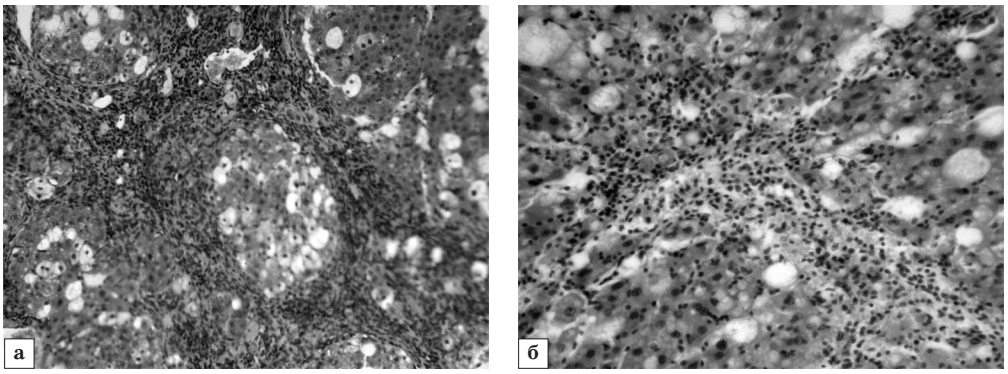

Рис. 3. Печінка щура після введення тетрахлорметану та етанолу. Запальна реакція (а – виразна, б – помірна), проникнення клітин інфільтратів углиб часточок. Гематоксилін-еозин, об. × 250.

початок утворення сполучнотканинних септ. Лише в одному випадку спостерігали досить виражений фібрилогенез – сформовані повні сполучнотканинні септи, відмічено утворення вузликів за типом «хибних» часточок (рис. 4 а-б).

На досить обмежених за розміром, відносно неушкоджених ділянках паренхіми печінки спостерігали набряклі клітини, з дрібнокрапельною вакуолізацією цитоплазми. Радіальна спрямованість тяжів затушована. Ознаки регенераторних процесів невиразні: двоядерні клітини майже не помітні, наявність гепатоцитів зі збільшеними ядрами та 2–3 ядерцями в ядрах обмежена. Результати напівкількісної оцінки морфологічних ознак патологічного процесу в печінці щурів із групи ПК наведено в таблиці 2.

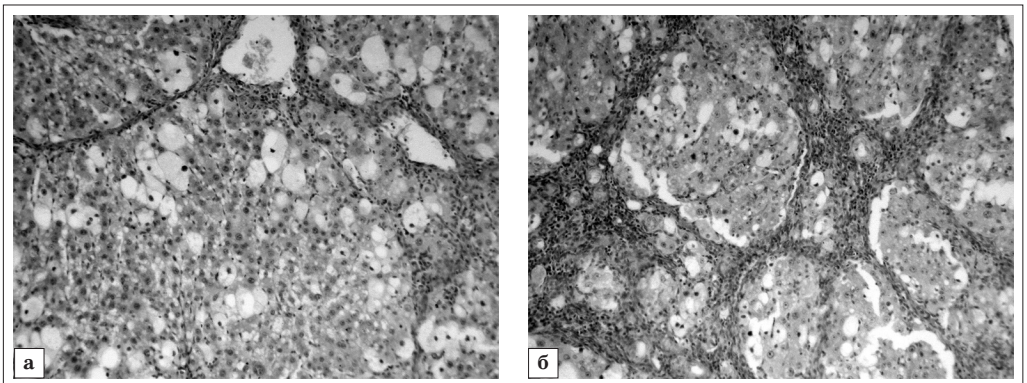

Рис. 4. Печінка щура після введення тетрахлорметану та етанолу. а – початкові ознаки утворення сполучнотканинних септ; б – розвиток повних сполучнотканинних септ з утворенням «хибних» часточок. Пікрофуксин за методом Ван-Гізона, об. × 150.

Таблиця 2

Показники напівкількісної оцінки морфологічних ознак патологічного процесу в печінці щурів, бали

Умови досліду	Ознаки руйнівних процесів					Ознаки відновлювальних процесів			Коефіцієнт ушкодження: відношення руйнівних процесів до відновлювальних
	Рівень некротичних порушень	Ступінь виразності жирової дистрофії	Клітинна реакція в зонах деструкції	Порушення мікроциркуляції	Набряк клітин	Збереженість паренхіми	Фіброз	Регенераторні прояви в зонах ураження	
Інтактний контроль	0	0	0	0	0	4	0	0	0
Контрольна патологія	2,0* (1-3)	3,12* (2-4)	2,0* (1-3)	2,12* (1-3)	2,25* (1-3)	1,62* (1-2)	1,12* (0-2)	1,25* (1-2)	2,56*
Капсули «Гепафісан», 54 мг/кг	1,2* (0-3)	2,2* (1-3)	1,6* (0-4)	0,6** (0-1)	2,2* (2-3)	2,0* (1-3)	1,2* (0-2)	2,0*/** (2-2)	1,5*/**
Капсули «Гепафісан», 108 мг/кг	1,0* (0-2)	2,0*/** (1-3)	1,33* (0-2)	0,66*/** (0-1)	1,66*/*** (1-2)	2,5*/**/*** (2-3)	1,16* (1-2)	2,33*/** (2-3)	1,11*/**
Капсули «Гепабене», 88 мг/кг	1,66* (1-3)	2,16* (1-3)	2,0* (1-3)	1,5* (1-3)	2,5* (2-3)	1,5* (1-2)	1,16* (1-2)	2,0*/** (2-2)	1,96*/**

*Примітка: * $P < 0,05$ відносно показників інтактного контролю;*
*** $P < 0,05$ відносно показників контрольної патології;*
**** $P < 0,05$ відносно показників референтного препарату.*

Уведення на тлі гепатотоксинів капсул «Гепафісан» покращило стан печінки щурів. Досить чітко простежена залежність ефекту від дози препарату. Так, при введенні капсул «Гепафісан» у дозі 54 мг/кг дуже слабкі патологічні зміни відмічено в 20 % тварин, помірні – у 60 %, виразні – у 20 % щурів. А при введенні капсул «Гепафісан» у дозі 108 мг/кг дуже слабку та виразну патологію спостерігали в 33,33 % випадках – по 16,67 % відповідно. Ще в 33,33 % випадках спостерігали слабку та помірно виражену патологію печінки (табл. 1). Такий розподіл підтверджено оглядовою мікроскопією. Так, у переважної більшості щурів, яким на тлі тетрахлорметану та етанолу вводили капсули «Гепафісан» у дозі 54 мг/кг, спостерігали зменшений порівняно з ПК розмір зон деструкції в часточках печінки, що мали досить чітке окреслення. Самі зони ураження не поєднувалися між собою, а були досить «автономні», у них видно збережені гепатоцити. У більшості щурів (60 %) була практично відсутня клітинна реакція зон ураження, прояви фібрілогенезу – невиразні. Значно зменшені відносно нелікованих щурів ознаки порушень мікроциркуляції – у 3,5 разу: відсутні діапедезні крововиливи, плазмодіапедез, зменшено розширення та повнокрів'я судин. Жирова дистрофія в 60 % щурів помітно зменшена, але в останніх 40 % випадків вона мала ще досить виразний характер. У частині гепатоцитів видно крупні жирові везикули, багато клітин містило середні та дрібні вакуолі, кількість жирових мікрокист зменшувалася (рис. 5 а-б).

Унаслідок певного зменшення руйнівних процесів дещо більші ділянки паренхіми зберігали відносно неушкоджений малюнок. Гепатоцити таких ділянок були набряклі. Ядра в них часто збільшені за розміром, містили 2–3–4 ядерця, іноді виразно просвітлені. Помічена поява двоядерних клітин. В одного щура введення гепатотоксинів призвело до виникнення значно більш виразних деструктивних змін, ніж у більшості тварин із групи. У цьому препараті на місці некротизованих гепатоцитів відмічено появу макрофагальних вузликів резорбції, фібропластичну реакцію – спостерігали досить виразну організацію некротизованих ділянок, утворення «хибних» часточок. Загалом, усе наведене вище свідчить про відсутність активного характеру патології, певну регресію її в переважної більшості щурів (по групі регенераторні ознаки збільшені в 1,6 разу відносно ПК).

При введенні капсул «Гепафісан» у дозі 108 мг/кг ознаки руйнівних процесів у печінці щурів зменшувалися порівняно з дозою 54 мг/кг. Помірні некротичні прояви знайдено лише в 33,33 % тварин. У проблемних зонах часточок вони займали обмежені ділянки. Жирова дистрофія мала виразний характер тільки в одному випадку. У більшості тварин вакуолі в цитоплазмі

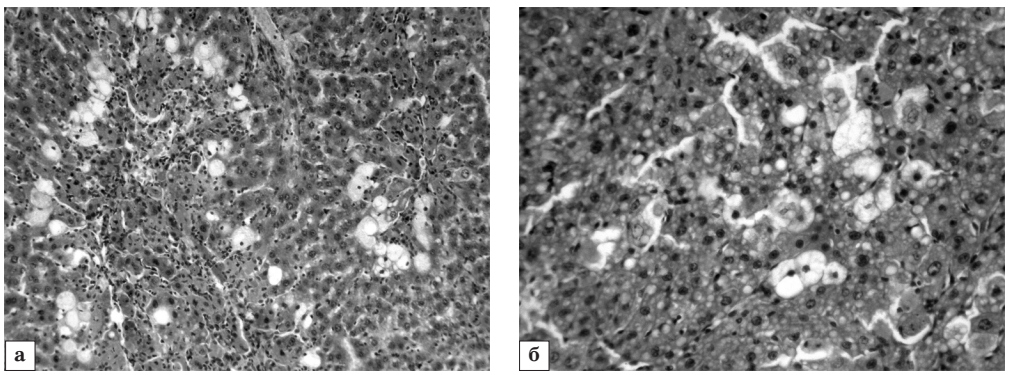

Рис. 5. Печінка щура після введення капсул «Гепафісан» (54 мг/кг): а – зменшення розміру та «автономність» зон деструкції; б – осередок деструкції: некроз частини гепатоцитів, помірна жирова дистрофія, клітинна реакція відсутня, наявність відносно неушкоджених клітин. Гематоксилін-еозин, об.: а – × 150; б – × 250.

не порушували цілісність клітин, мали переважно дрібний характер. Середній показник потужності жирової дистрофії в щурів, яким уводили капсули «Гепафісан» у дозі 108 мг/кг, зменшений у 1,56 разу в порівнянні з ПК. Клітинна реакція перивенулярно та перипортально майже відсутня в 50 %, та мала помірну виразність у останніх 50 % тварин. У більшості випадків був відсутній фібрілогенез (рис. 6 а-б).

Стан мікроциркуляторного русла значно поліпшувався в усіх щурів цієї групи (у 3,2 разу). Значно збільшені ділянки неушкодженої паренхіми в часточках – на 54,3 %, набряклість клітин у них виражена менше. Багато клітин мали збільшені за розміром ядра, в яких містилось більше 2-х ядерець, пул двоядерних клітин помітно збільшувався порівняно з ПК, двоядерні клітини зустрічалися в усіх відділах часточок, що свідчить про посилення регенераторних проявів (у 1,86 разу). Отож, практично в усіх щурів патологічний процес у печінці, завдяки введенню гепафісану в дозі 108 мг/кг, переходить у неактивну стадію і зазнає значної регресії. Напівкількісну оцінку стану печінки щурів, які отримували в різних дозах капсули «Гепафісан» на тлі гепатотоксинів, подано в таблиці 2.

Після введення тваринам на тлі тетрахлорметану та етанолу референтного зразка – капсул «Гепабене», у значної частини щурів (83,33 % з групи) спостерігали покращання стану печінки порівняно з ПК – помірну патологію. У той самий час, між ними досить виразною була розбіжність проявів різних ознак патології. Так, у 60 % цих щурів переважали прояви стеатозу, жирової дегенерації, у 40 % тварин з цієї самої частини переважали прояви некрозу, клітинної запальної реакції, порушень мікроциркуляції, іноді помічали посилення фібрилогенезу, з утворенням не зовсім повних сполучнотканинних септ (рис. 7 а-в).

Самі осередки деструкції були зменшені в розмірах, але розповсюдженість їх у часточках мала досить дифузний

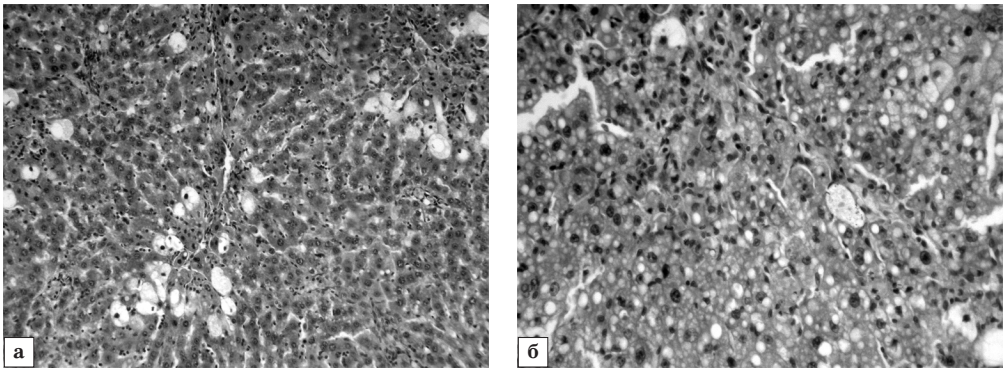

Рис. 6. Печінка щура після введення капсул «Гепафісан» (108 мг/кг): а – обмежений характер зон ураження; б – некроз окремих груп гепатоцитів, помірна середньота дрібнокрапельна жирова дистрофія клітин, виразні регенераторні прояви. Гематоксилін-еозин, об.: а – × 150; б – × 250.

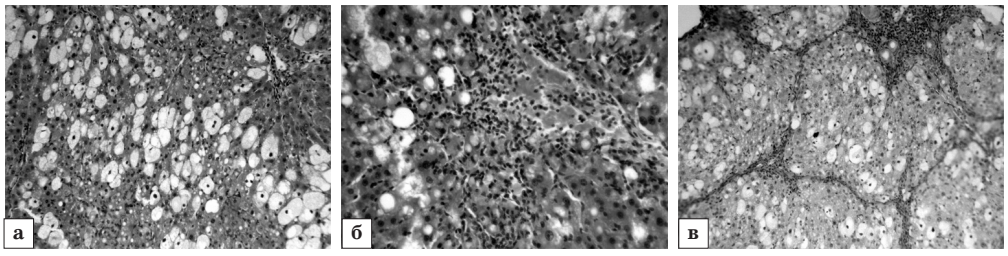

Рис. 7. Печінка щура після введення капсул «Гепабене» (88 мг/кг): а – перевага проявів стеатозу; б – перевага проявів некрозу, порушень мікроциркуляції; в – утворення сполучнотканинних септ, «хибних» часточок. Гематоксилін-еозин, об.: а, б – × 150; в – пікрофуксин за методом Ван-Гізона, об. × 150).

характер. У 16,67 % тварин, яким уводили гепабене, деструктивний характер патологічного процесу був майже на рівні позитивного контролю (табл. 1). У всіх випадках клітини поза зонами деструкції залишилися виразно набряклими, радіальний напрямок тяжів гепатоцитів затушовано. У той самий час регенераторні прояви мали місце й були виражені в більшій мірі, ніж у групі ПК. Напівкількісна оцінка стану печінки тварин, які отримували гепабене, у цілому не показала вірогідне зменшення некротичних проявів, потужності стеатозу, порушень мікроциркуляторних процесів порівняно з ПК. Клітинна реакція в осередках деструкції, виразність фібрилогенезу, збереженість паренхіми також залишилися на тому самому рівні, що в ПК, а такий показник, як набряклість клітин навіть дещо перевищив рівень ПК. У той самий час ознаки регенерації в 1,6 разу були більш виразні, ніж у ПК (табл. 2).

Таким чином, на підставі одержаних даних, можемо зробити наступні підсумки: багаторазове підшкірне введення щурам 20 % олійного розчину тетрахлорметану в комбінації з внутрішньошлунковим введенням 5 % розчину етанолу призводить до розвитку в переважної більшості тварин активного гепатиту з ознаками хронізації, а також жирової дегенерації. В одного щура спостерігали трансформацію хронічного активного гепатиту у фіброз. Спонтанні відновлювальні процеси в тканині (зменшення та організація зон деструкції, відновлення балочного малюнка, наявність двоядерних клітин, збільшення розмірів ядра, чисельності ядерець) відбувалися повільно. Умовний коефіцієнт патології (співвідношення виразності руйнівних процесів у паренхімі печінки до відновлювальних) у тварин групи ПК складав 2,56.

Після введення капсул «Гепафісан» у дозі 54 мг/кг, а ще наочніше – у дозі 108 мг/кг на тлі гепатотоксинів, спостерігали покращання морфологічної картини печінкової паренхіми. Це проявлялося, насамперед, у зменшенні виразності морфологічних ознак активності гепатиту: послабленні або усуненні клітинної реакції, зменшенні чи відсутності проникнення запальних клітинних інфільтратів углиб печінкових часточок, відсутності поєднання між собою різних зон порушення в ацинусах за допомогою некротичних містків. Значно зменшені або відсутні прояви фібрилогенезу, жирової дистрофії клітин. Помітно збільшена кількість неушкоджених гепатоцитів. Крім того, у тварин, яким уводили гепафісан, спостерігали стимулювання як клітинної (збільшення пулу двоядерних клітин), так і внутрішньоклітинної (збільшення розмірів ядра, кількості ядерець) регенерації гепатоцитів у зонах деструкції. Усе це значною мірою сприяло відновленню балочного малюнка. Як наслідок, патологічний процес стабілізувався, переходив у неактивну стадію, що запобігало його прогресуванню, і відбувалася помітна регресія процесу. Про це свідчить і умовний коефіцієнт патології печінки: у щурів після введення капсул «Гепафісан» у дозах 54 мг/кг та 108 мг/кг він у 1,7 і 2,3 разу відповідно був меншим, ніж у тварин групи ПК.

Референтний зразок – капсули «Гепабене» – проявляв менш виразний гепатопротекторний вплив на даній експериментальній моделі патології й поступався досліджуваному препарату – капсулам «Гепафісан». Коефіцієнт ушкодження печінки в тварин, яким уводили гепабене, зменшено відносно ПК лише в 1,3 разу.

Висновки

1. За результатами морфологічних досліджень на експериментальній моделі хронічного етанол-тетрахлорметанового ураження печінки щурів капсули «Гепафісан» у дозі 54 мг/кг та 108 мг/кг проявляють гепатопротекторну дію, перевершуючи активність референтного препарату капсул «Гепабене».
2. Гепатопротекторна дія капсул «Гепафісан» виявляється в усуненні клітинної реакції, зменшенні запальної клітинної інфільтрації, відсутності некрозу та фібрилогенезу, зменшенні проявів жирової дистрофії, зростанні кількості неушкоджених гепатоцитів, стимуляції регенерації гепатоцитів.

1. Рослинні гепатопротектори (есенційні фосфоліпіди та препарати розторопші плямистої) з позиції доказової медицини / Попович В. П., Громовик Б. П., Купраш Л. П., Глуховський П. В. // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2011.– № 6 (25).– С. 69–75.
2. *Буеверов А. О.* Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени / Буеверов А. О. // Болезни органов пищеварения.– 2001.– № 1.– С. 16–18.
3. *Морозов С. В.* Гепатопротекторы в клинической практике: рациональные аспекты использования (пособие для врачей) / С. В. Морозов, Ю. А. Кучерявый.– М.: 4ТЕ Арт, 2011.– 28 с.
4. *Сахарова Т. С.* Поиск и фармакологическое изучение гепатозащитных средств в ряду металлокомплексов производных N-фенилантраниловых кислот: Автореф. дисс. канд. фарм. наук.– М., 1989.– 21 с.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) /за редакцією О. В. Стефанова.– К.: Авіцена, 2001.– 528 с.
6. *Волкова О. В.* Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий.– М., 1982.– 304 с.

О. В. Геруш, Е. Б. Леницкая, Ю. Б. Ларьяновская

Влияние капсул «Гепафисан» на состояние печени на модели хронического гепатита у крыс

Капсулы «Гепафисан» – новый растительный препарат, презентуется как перспективное лекарственное средство для лечения острых и хронических патологий гепатобилиарной системы. Цель работы – установить терапевтическую эффективность исследуемого препарата на модели хронического гепатита у крыс, вызванного комбинированным введением этанола и тетрахлорметана. Установлено выраженное гепатопротекторное действие капсул «Гепафисан» в дозе 108 мг/кг, которое значительно превосходит эффективность капсул «Гепабене».

Ключевые слова: хронический гепатит, гепатопротектор, капсулы «Гепафисан»

O. V. Gerush, E. B. Lenitskaya, J. B. Laryanovskaya

Influence of capsule «Hepafisan» on the state of the rats liver under chronic hepatitis model

Capsules «Hepafisan», a new plant medicine, is presented as a promising drug for the treatment of acute and chronic abnormalities of the hepatobiliary system. The aim of this study is to establish a therapeutic efficacy of this medicine on a model of chronic hepatitis caused by the combined administration of ethanol and tetrachloromethan. A pronounced hepatoprotective effect of capsules «Hepafisan» in a dose of 108 mg/kg surpassing the efficiency of capsules «Hepabene» was established.

Key words: chronic hepatitis, hepatoprotector, capsules, «Hepafisan»

Надійшла: 21.05.2012 р.

Контактна особа: Леницька Олена Борисівна, канд. фармацевтичних наук, молодший науковий співробітник, Центральна науково-дослідна лабораторія, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова 12, м. Харків, 61002. Тел.: (96) 385-15-05.
E-mail: Lenitskaya_Elena@mail.ru

УДК 615.9:615.281.9; 577.113; 543.42.061:543.9; 579.6; 544.7

Т. Г. Грузіна[1], С. М. Дибкова[1], А. О. Прискока[2], Л. С. Рєзніченко[1], З. Р. Ульберг[1], І. С. Чекман[2]

Дослідження наночастинок срібла за критеріями генотоксичності, мутагенності та впливу на штами-пробіонти шлунково-кишкового тракту людини та тварин

[1]Інститут біоколоїдної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України, м. Київ
[2]Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

Ключові слова: нанофармакологія, наночастинки срібла, генотоксичність, мутагенність, штами-пробіонти

На сьогоднішній день одними з найбільш активно досліджуваних наночастинок металів для медичних цілей є наносрібло, яке має низку фармакологічних ефектів (протимікробний, протизапальний, імуномодулюючий) [1–3]. Саме наносрібло може бути ефективною альтернативою високотоксичним протимікробним засобам. Такі наночастинки мають реальні перспективи для використання їх при розробці виробів медичного призначення, у хірургічній практиці при створенні протимікробних препаратів, у тому числі для лікування сепсису тощо.

Висока зацікавленість у продуктах нанотехнологій породжує велику кількість питань, пов'язаних із безпечністю використання наноматеріалів. Біологічна безпека наноматеріалів є актуальним питанням, яке вимагає комплексного науково-обґрунтованого підходу [1, 4]. Окремим аспектом цієї проблеми є встановлення їхнього впливу на генетичний апарат людини для попередження генотоксичних та мутагенних ефектів потенційних нанопрепаратів [4, 5]. Генотоксичність – це здатність спричиняти первинні ДНК-пошкодження, а мутагенність – здатність викликати мутації в живих організмах. Генотоксичність у випадку відсутності репараційних процесів у клітинах може призводити до мутацій.

Існують дані, що нанорозмірне срібло залежно від наявності покриття, методу отримання тощо, може впливати чи не впливати на генетичний апарат різних тестових об'єктів *in vitro* [6–16]. Тим не менш бракує досліджень генотоксичності новостворених наночастинок *in vivo*.

Основним фактором у розвитку генотоксичного ефекту більшість дослідників уважають активні форми кисню, що утворюються при проникненні наночастинок у клітину [17]. В одній із нечисленних робіт, де генотоксичність наносрібла визначали *in vivo* [18], показано, що наночастинки срібла (60 нм) не виявляли генотоксичного впливу на червоний кістковий мозок лабораторних тварин.

Мета дослідження – поглиблена оцінка потенційного ризику синтезованих експериментальних препаратів наночастинок срібла як перспективних субстанцій для фармакології, з залученням розширеного спектра методів тестування біобезпеки.

Досліджувані в даній роботі наночастинки срібла раніше не оцінювалися за критеріями генотоксичності, мутагенності та впливу на штами нормофлори шлунково-кишкового тракту.

Матеріали та методи. У роботі були використані наночастинки срібла сферичної форми дискретних розмірів 20, 30 та 55 нм у концентраціях, які зумовлені умовами експерименту. Наночастинки срібла отримували у водному середовищі конденсаційним методом [19].

Розмір отриманих наночастинок установлювали з використанням методу лазерно-кореляційної спектрометрії (ЛКС). Вимірювання проводили на лазерно-кореляційному спектрометрі

© Колектив авторів, 2012

Zetasizer-3 («Malvern Instruments Ltd», Великобританія) [20]

В експериментах *in vitro* використана тестова культура клітин китайського хом'ячка CHO-K1 із колекції Державного науково-контрольного інституту біотехнології й штамів мікроорганізмів (Київ, Україна). Клітини культури CHO-K1 нарощували на середовищі F10 («Sigma», США), що містило 5 % ембріональної сироватки великої рогатої худоби («Gibco», США) до титру $5 \cdot 10^5$ кл/мл.

Кількість живих клітин, визначених за допомогою фарбування 0,3 % розчином трипанового синього, складала не менш ніж 90 %.

Електронно-мікроскопічний аналіз розподілу наночастинок срібла в тест-клітинах здійснено за допомогою електронного мікроскопа JEOL JEM-1230 Electron Microscope («Tokyo Boeki Ltd», Японія).

В експериментах *in vivo* були використані самці та самки білих лабораторних мишей ліній BALB/c та C57 black із середньою вагою 18–22 г. Усіх тварин утримували в стандартних умовах віварію Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

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

Дослідження генотоксичності *in vivo* проводили інтегровано з дослідженням гострої токсичності на мишах обох статей ліній BALB/c та C57 black із середньою вагою 18–22 г. Рівні доз та кількість тварин (24 тварини) обирали, керуючись експрес-методом визначення середньоефективних доз, запропонованим В. Б. Прозоровським та ін. [22], а також, виходячи з попередніх експериментів (уведення максимальної дози колоїдного розчину наносрібла). У першому експерименті тваринам уводили внутрішньоочеревинно одноразово розчин наносрібла (концентрація – 1590 мг/л, розмір 30 нм) у дозах 31,6, 39,8, 50,1 та 63,1 мг/кг. У другому експерименті вводили речовину порівняння – розчин $AgNO_3$ одноразово в дозах 31,6, 39,8, 50,1 та 63,1 мг/кг у перерахунку на срібло. Контрольним тваринам вводили внутрішньоочеревинно воду для ін'єкцій (виробник – ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»). Для всіх рівнів доз використовували по дві миші. Тварин спостерігали протягом 14 днів після введень два рази на добу. Усі досліджувані тварини підлягали розтину. Для досліджень генотоксичності були взяті тварини, яким уводили колоїдний розчин наносрібла в дозах 39,8, 50,1 та 63,1 мг/кг.

Оцінку впливу наночастинок срібла на генетичний апарат здійснювали з використанням низки маркерів *in vitro* та *in vivo*.

Оцінку генотоксичності за умов впливу наночастинок срібла на тестові еукаріотичні клітини та клітини, ізольовані з органів та тканин, здійснювали за наступною схемою: отримання гель-слайда, формування мікропрепарату, лізис, лужна денатурація, проведення електрофорезу, нейтралізація/фіксація, фарбування препарату, мікроскопічний аналіз [23, 24].

В експериментах *in vitro* обробку еукаріотичних клітин культури CHO-K1 наночастинками срібла здійснювали протягом 2 год при 37 °C. Час обробки експериментально обґрунтований, виходячи з даних електронно-трансмісійної мікроскопії. Позитивним контролем слугували клітини культури яєчника китайського хом'яка CHO-K1, оброблені N-нітрозометилсечовиною в концентрації 1 мМ протягом 24 год. Як негативний контроль були використані клітини CHO-K1 у розчині ДМСО.

Для оцінки генотоксичного впливу наночастинок срібла *in vivo* тварин виводили з експерименту через 1 добу та 14 діб після ін'єкцій шляхом декапітації, видаляли печінку, нирки, селезінку, головний мозок, серце та легені. Виділення клітин із тканин та органів мишей здійснювали за загальноприйнятими методиками [23, 25].

Мікроскопію препаратів здійснювали за допомогою флуоресцентного мікроскопа («ЛЮМАМ Р8», Росія) з використанням збуджуючого фільтра 490 нм, дихроїчного дзеркала 510, відтинаючого фільтра 530 нм. Збільшення – × 200–400. На кожний мікропрепарат аналізували по 100 «ДНК-комет» без накладень «хвостів». В аналіз не вклю-

чали апоптичні клітини, що виявляються на мікропрепаратах у вигляді слабко флуоресціюючих «ДНК-комет» із широким дифузним «хвостом» і практично відсутньою «головою», так звані «їжачки».

Аналіз «ДНК-комет» проводили як візуально, так і шляхом комп'ютерної обробки цифрових зображень за допомогою програми «COMET-CASP». При цьому визначали наступні параметри «комет»: індекс «ДНК-комет» ($I_{ДНК}$), «довжина хвоста», % ДНК у хвості», «момент хвоста» і т. ін.

При візуальному аналізі ДНК-комети розподіляли на п'ять умовних типів із відповідним для кожного числовим значенням від 0 до 4. Ступінь пошкодження ДНК при цьому виражали як індекс «ДНК-комет» ($I_{ДНК}$), який обчислювали за формулою:

$$I_{ДНК} = (0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4)/\Sigma,$$

де

$n_0 - n_4$ – число «ДНК-комет» кожного типу, Σ – сума «ДНК-комет».

Статистичну обробку результатів проводили по кожній експериментальній точці шляхом порівняння показників ушкодження ДНК у дослідних та контрольних групах. Критерієм позитивного результату був статистично достовірний відтворюваний ефект.

Мутагенну активність наночастинок срібла визначили з використанням анафазного методу підрахунку хромосомних аберацій у клітинах апікальної меристеми цибулі *Allium cepa* [26].

Стан мікрофлори шлунково-кишкового тракту людини й тварин оцінювали, підраховуючи кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) тестових пробіотичних культур у присутності наночастинок срібла та без них. Як тестові були використані штами-пробіонти *Lactobacillus acidophilus* АН100, *Escherichia coli* М-17, *Bifidobacterium bifidum L* (з Депозитарію Національного центру штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ, м. Київ).

Як біохімічні маркери були використані активності мембранозв'язаної Na^+/K^+-АТР-ази (клітин лінії СНО-К1) та цитозольної лактатдегідрогенази (клітин лінії СНО-К1) [27].

У роботі використані *Tris-HCl*, агароза («Serva», Німеччина), акридиновий жовтогарячий, N-нітрозометилсечовина, трипановий синій («Sigma»,США) та реактиви вітчизняного виробництва кваліфікації «ч.д.а.».

Результати та їх обговорення. Безпечне медико-біологічне застосування наночастинок металів взагалі та наносрібла, зокрема, не можливе без детального дослідження та оцінки їхніх потенційних ризиків. Така оцінка є адекватною у випадку використання системних біомаркерів – ключових системних характеристик живого організму, які чутливі до негативної дії фактора чи речовини.

Біологічна дія наносрібла найповніше виявляється за умов проникнення наночастинок усередину клітини. В експериментах по контактній взаємодії еукаріотичних клітин лінії СНО-К1 із наночастинками срібла розміром 30 нм методом трансмісійної електронної мікроскопії встановлено, що наносрібло акумулюється всередині клітини та рівномірно розподіляється в її цитоплазмі (рис. 1).

Дослідження генотоксичності наносрібла, виконані методом лужного гель-електрофорезу ізольованих еукаріотичних клітин *in vitro* продемонстрували наступне. У зразках еукаріотичних клітин лінії СНО-К1, оброблених наночастинками срібла дискретних розмірів 20, 30 та 55 нм, не було зафіксовано первинних ДНК-пошкоджень, порівняно із впливом N-нітрозометилсечовини, яка є відомим генотоксикантом (рис. 2, А). Типові електрофоретичні зображення

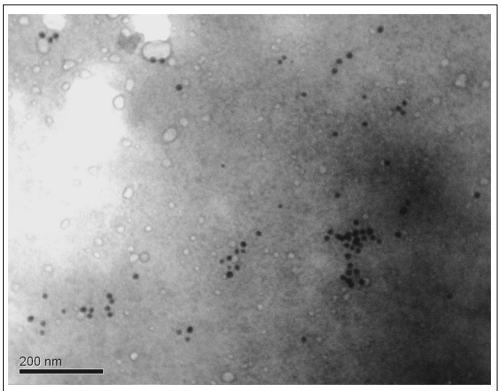

Рис. 1. Електронно-мікроскопічне зображення внутрішньоклітинної локалізації наночастинок срібла розміром 30 нм.

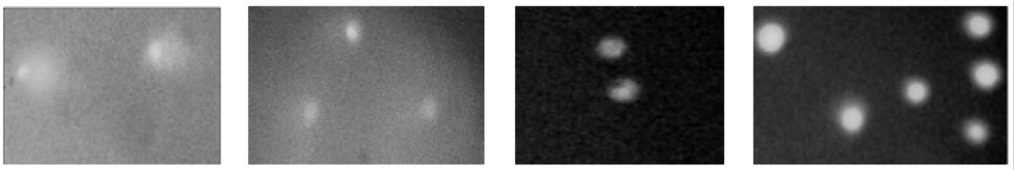

Рис. 2. Електрофоретичні зображення: А – пошкодженої ДНК N-нітрозометилсечовиною (позитивний контроль); Б, В, Г – не пошкодженої ДНК наночастинками срібла розміром 20 нм (Б), 30 нм (В), 55 нм (Г).

ДНК клітин, оброблених наносріблом представлені на рисунку 2, Б, В, Г.

Індекс ДНК-комет ($I_{ДНК}$) – показник, що характеризує рівень пошкоджень ДНК, під впливом вивчених наночастинок срібла, сягав значень, близьких до $I_{ДНК}$ негативного контролю (табл. 1).

Отримані результати *in vitro* засвідчили відсутність генотоксичного впливу на клітини СНО-К1 наночастинок срібла в усьому дослідженому концентраційному та розмірному діапазоні.

В експериментах *in vivo* показано, що наночастинки срібла розміром 30 нм за умов внутрішньоочеревинного введення не проявляли генотоксичної дії на клітини печінки, нирок, серця, головного мозку, легень та селезінки мишей ліній С57 Black та BALB/c. У таблиці 2 наведені дані щодо рівня генотоксичного впливу наносрібла на органи-мішені мишей лінії С57 Black.

Дані таблиці 2 свідчать, що показники генотоксичної дії наночастинок срібла на органи-мішені знаходилися

Таблиця 1

Оцінка генотоксичності наночастинок срібла in vitro

Наночастинки срібла	Індекс ДНК-комет ($I_{ДНК}$)
20 нм (С=27,8 мкг/мл)	0,014±0,001
20 нм (С=0,28 мкг/мл)	0,012±0,001
30 нм (С=27,8 мкг/мл)	0,015±0,001
30 нм (С=0,28 мкг/мл)	0,013±0,001
55 нм (С=27,8 мкг/мл)	0,014±0,001
20 нм (С=0,28 мкг/мл)	0,012±0,001
Негативний контроль	0,014±0,001
Позитивний контроль	3,98±0,1

Таблиця 2

Оцінка генотоксичності наночастинок срібла розміром 30 нм in vivo

Органи-мішені	Показники генотоксичної дії наночастинок срібла (НС)					
	«% ДНК у хвості»		«довжина хвоста»		«момент хвоста»	
	$К^-$	НС	$К^-$	НС	$К^-$	НС
Печінка	0,42±0,15	0,54±0,17	3,42±0,18	3,22±0,17	0,03± 0,01	0,03± 0,01
Нирки	0,54±0,17	0,55±0,16	3,15±0,16	3,19±0,18	0,03± 0,01	0,03± 0,01
Серце	0,46±0,19	0,47±0,19	3,22±0,17	3,22±0,21	0,03± 0,01	0,03± 0,01
Головний мозок	0,36±0,12	0,35±0,12	3,40±0,18	3,37±0,22	0,03± 0,01	0,03± 0,01
Легені	0,90±0,23	0,92±0,21	3,21±0,15	3,27±0,18	0,03± 0,01	0,03± 0,01
Селезінка	0,30±0,12	0,37±0,12	2,44±0,15	2,08±0,15	0,03± 0,01	0,02± 0,01

Примітка. Миші лінії С57 black; концентрація вихідного препарату наночастинок срібла по металу – 1590 мкг/мл; доза введеного препарату наночастинок срібла – 39,8 мг/кг; К- – негативний контроль (органи тварин контрольної групи).

Таблиця 3

Вплив наносрібла розміром 20, 30 та 55 нм in vitro на клітини штамів-пробіонтів – представників нормофлори шлунково-кишкового тракту

Тест-штам	Концентрація наночастинок срібла (20, 30 та 55 нм), мкг/мл за металом					
	$4{,}3 \cdot 10^{-5}$	3,0	6,45	10,75	15,05	21,5
Escherichia coli M-17	Стимуляція	Не впливають	Не впливають	Інгібування	Інгібування	Інгібування
Bifidobacterium bifidum L	Стимуляція	Не впливають	Не впливають	Не впливають	Не впливають	Інгібування
Lacto-bacillus acidophilus АН 100	Стимуляція	Не впливають	Не впливають	Не впливають	Не впливають	Інгібування

на рівні аналогічних показників негативного контролю.

Дослідження мутагенної дії наночастинок срібла розміром 30 нм виконані на рослинних меристемах, які є надзвичайно чутливими до небезпечної дії хімічних речовин та фізичних факторів і рекомендовані як маркери для вивчення мутагенних ефектів.

Показано, що обробка насінин *Allium cepa* наночастинками срібла розміром 30 нм прискорювала їхнє проростання. Мітотичний індекс при цьому становив 95 % при рівні контрольного показника – 64 %. Анафазний метод підрахунку хромосомних аберацій у клітинах таких апікальних меристем засвідчив, що в оброблених наночастинками срібла меристемах кількість аберантних клітин становила 0,3 %, а в контрольних, не оброблених зразках, – 0,1 %. Таке незначне підвищення частоти хромосомних аберацій у клітинах *Allium cepa* під дією наночастинок срібла розміром 30 нм може бути зумовлене інтенсифікацією мітотичного процесу (до 95 %) і не свідчить про їх мутагенну активність.

Оцінку впливу наносрібла на стан мікрофлори шлунково-кишкового тракту людини й тварин *in vitro* здійснювали, вивчаючи вплив таких наночастинок на пробіотичні культури *Lactobacillus acidophilus* АН200, *Bifidobacterium bifidum L*, *Escherichia coli* М-17. Показано, що наночастинки срібла з середніми розмірами 20, 30 та 55 нм при концентрації 21,5 мкг/мл за металом пригнічували ріст усіх досліджених пробіотичних культур. Проте при концентрації $4{,}3 \cdot 10^{-5}$ мкг/мл за металом усі досліджувані наночастинки стимулювали ріст тестових штамів бактерій-пробіонтів (табл. 3).

Наносрібло дискретних розмірів 20, 30 та 55 нм при концентраціях 3,0 та 6,45 мкг/мл за металом не впливало на життєдіяльність тестових бактеріальних культур, а при концентраціях 10,75 та 15,05 мкг/мл за металом спостерігалося пригнічення росту бактерій пробіотичного штаму *Escherichia coli* М-17, тоді як на клітини тестових штамів *Bifidobacterium bifidum L*, *Lactobacillus acidophilus* АН100 наночастинки срібла у вище зазначених концентраціях не впливали. Ці дані засвідчили відсутність негативної дії на досліджувані штами-пробіонти наночастинок срібла в концентраційному діапазоні $4{,}3 \cdot 10^{-5}$ – 6,45 мкг/мл за металом для типових представників нормофлори шлунково-кишкового тракту людини та тварин.

Таким чином, оцінка потенційних ризиків наночастинок срібла дискретних розмірів 20, 30 та 55 нм із залученням високопрогностичних тестів на генотоксичність, мутагенність та стан нормофлори шлунково-кишкового тракту засвідчила відсутність потенційного негативного впливу *in vitro* та *in vivo*. Досліджені наночастинки срібла після нормативно-регламентованих токсикологічних досліджень можуть бути рекомендовані як перспективні субстанції для фармакології.

1. *Чекман І. С*. Нанофармакологія: експериментально-клінічний аспект / І. С. Чекман // Лікарська справа. Врачебное дело.– 2008.– № 3–4.– С. 104–109.
2. *Мосин О. В*. Физиологическое воздействие наночастиц серебра на организм человека / О. В. Мосин // NanoWeek.– 2008.– № 3.– С. 34–37.
3. *Рибачук А. В.* Протимікробні властивості наносрібла / А. В. Рибачук, І. С. Чекман // Фармакологія та фармація. Український науково-медичний молодіжний журнал.– 2009.– № 2.– С. 32–36.
4. *Ульберг З. Р.* Біобезпечні наночастинки металів в наномедицині та нанобіотехнології / З. Р. Ульберг, Т. Г. Грузіна, С. М. Дибкова [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини.– 2010.– № 4.– С. 72–77.
5. *Чекман І. С*. Нанотоксикологія: напрямки досліджень (огляд) / І. С. Чекман, А. М. Сердюк, Ю. І. Кундієв // Довкілля та здоров'я.– 2009.– Т. 48, № 1.– С. 3–7.
6. *Gou N*. Mechanistic toxicity assessment of nanomaterials by whole-cell-array stress genes expression analysis / Gou N., Onnis-Hayden A., Gu A. Z. // Environ. Sci. Technol.– 2010.– V. 44, № 15.– P. 5964–5970.
7. *Kumari M*. Genotoxicity of silver nanoparticles in Allium cepa / Kumari M., Mukherjee A., Chandrasekaran N. // Sci. Total Environ.– 2009 – V. 407, № 7.– P. 5243–5246.
8. *Panda K. K*. In vitro biosynthesis and genotoxicity bioassay of silver nanoparticles using plants / Panda K. K., Achary V. M., Krishnaveni R. [et al.] // Toxicol. In Vitro.– 2011. Режим доступу до журн.: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887-2333(11)00065-8
9. *Nair P. M*. Differential expression of ribosomal protein gene, gonadotrophin releasing hormone gene and Balbiani ring protein gene in silver nanoparticles exposed Chironomus riparius / Nair P. M., Park S. Y., Lee S. W. [et al.] // Aquat. Toxicol.– 2011 – V. 101, № 1.– P. 31–37.
10. *Wise J. P.* Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells / Wise J. P. Sr, Goodale B. C., Wise S. S. [et al.] // Aquat Toxicol.– 2010.– V. 97, № 1.– P. 34–41.
11. *Ahamed M.* DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells / Ahamed M., Karns M., Goodson M. [et al.] – Toxicol. Appl. Pharmacol.– 2008.– V. 233, № 3.– P. 404–410.
12. *Foldbjerg R*. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549 / Foldbjerg R., Dang D. A, Autrup H. // Archives of toxicology.– 2010; Режим доступу до журн.: http://www.springerlink.com/content/2310512421216884/
13. *Asharani P. V.* Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells / Asharani P. V., Low Kah Mun G., Hande M. P. [et al.] // ACS Nano.– 2009.– V. 3, № 2.– P. 279–290.
14. *Chi Z*. A new strategy to probe the genotoxicity of silver nanoparticles combined with cetylpyridine bromide / Chi Z., Liu R., Zhao L. [et al.] // Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.– 2009.– V. 72, № 3.– P. 577–581.
15. *Ng C. T.* Current studies into the genotoxic effects of nanomaterials / Ng C. T., Li J. J., Bay B. H. [et al.] // J. Nucleic Acids.– 2010. Режим доступу до журн.: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2946614
16. *Дибкова С. М.* Визначення ушкоджень ДНК наночастинками металів, перспективних для біотехнології / С. М. Дибкова, М. Є. Романько, Т. Г. Грузіна [та ін.] // Біотехнологія.– 2009.– Т. 2, № 3.– С. 80–85.
17. *Чекман І. С.* Наногенотоксикологія: вплив наночастинок на клітину / І. С. Чекман, М. О. Говоруха, А. М. Дорошенко // Український медичний часопис.– 2011.– № 1 (81).– С. 30–35.
18. *Kim Y. S*. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats / Kim Y. S., Kim J. S., Cho H. S. [et al.] // Inhal. Toxicol.– 2008.– V. 20, № 6.– P. 575–583.
19. Методические разработки к практикуму по коллоидной химии / Под. ред. А. В. Перцова.– Москва: Изд-во МГУ, 1976.– 128 с.
20. *Rawle A*. Basic principles of particle size analysis / A. Rawle // Malvern Instruments Limited. Режим доступу до журн.: www.malvern.co.uk.
21. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія.– 2003.– Т. 8, № 1.– С. 142–145.
22. Прозоровский В. Б. / Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П., Демченко В. М. // Фармакология и токсикология.– 1978.– Т. 41, № 4.– С. 497–502.
23. *Дибкова С. М.* Методичні рекомендації «Оцінка біобезпеки наноматеріалів органічної та неорганічної природи методом визначення генотоксичності лужним гель-електрофорезом ізольованих еукаріотичних клітин», затверджені Державним науково-контрольним інститутом біотехнології і штамів мікроорганізмів Міністерства аграрної політики України та Державним комітетом ветеринарної медицини України (14.05.2009, № 661) Постанова № 661 від 14.05.2009 та Постанова № 1 від 23-24 грудня 2009 р. / С. М. Дибкова, Т. Г. Грузіна, З. Р. Ульберг [та ін.].– 2010.– 24 с.
24. *Didenko V.* Methods in molecular biology. In situ detection of DNA damage. Methods and protocols / Edited by V. V. Didenko // Humana ress.– 2002.– V. 203.– 279 p.

25. *Дибкова С. М*. Патент України на корисну модель МПК (2009.01) G01N33/00 G01N33/48. Спосіб оцінки генотоксичних властивостей наноматеріалів / С. М. Дибкова, О. В. Годовський, М. Є. Романько, Т. Г. Грузіна, З. Р. Ульберг, В. О. Ушкалов, А. М. Головко // Заявл.10.09.2009; Опубл. 25.03.2010.– Бюл. № 6.– 10 с.
26. *Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева.– М.: Агропромиздат, 1988.– 272 с.
27. *Прохорова М. И.* Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Учеб. пособие / Под ред. М. И. Прохоровой.– Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та, 1982.– 272 с.

Т. Г. Грузина, С. М. Дыбкова, А. О. Прискока, Л. С. Резниченко, З. Р. Ульберг, И. С. Чекман

Исследование наночастиц серебра по критериям генотоксичности, мутагенности и влияния на штаммы-пробионты желудочно-кишечного тракта человека и животных

С использованием высокопрогностичных тестов оценки потенциальных рисков применения наночастиц серебра в фармакологии показано, что синтезированные методом химической конденсации в водной среде наночастицы серебра дискретных размеров 20, 30 и 55 нм были безопасными по критериям генотоксичности, мутагенности и влиянию на штаммы-пробионты желудочно-кишечного тракта человека и животных.

Ключевые слова: нанофармакология, наночастицы серебра, генотоксичность, мутагенность, штаммы-пробионты

T. G. Gruzina, S. M. Dybkova, A. O. Priskoka, L. S. Rieznichenko, Z. R. Ulberg, I. S. Chekman

Silver nanoparticles study by criteria of genotoxicity, mutagenicity and influence on probiont bacteria strains of human and animal gastrointestinal tract

With using of high prognostic tests for potential risk assessment of silver nanoparticles application in pharmacology it has been shown safety by criteria of genotoxicity, mutagenicity and influence on probiont strains of human and animal gastrointestinal tract of 20, 30 and 55 nm silver nanoparticles synthesized by the method of chemical condensation in water medium.

Key words: nanopharmacology, silver nanoparticles, genotoxicity, mutagenicity, probiont strains

Надійшла: 21.12.2011 р.

Контактна особа: Прискока Андрій Олегович, аспірант, кафедра фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ, 03057. Тел.: (67) 247-73-58.

УДК 582.893:615.451.16:577.127.4:615.254.7:615.355

О. О. Койро, С. Ю. Штриголь

Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria L.*) та 3-о-галактозиду кемпферолу на обмін сечової кислоти в мишей у нормі та за гіперурикемії

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: яглиця звичайна, екстракт, настойка, 3-о-галактозид кемпферолу, гіпоурикемічна активність, ксантиноксидаза

Підвищення рівня сечової кислоти (СК) у крові є фактором ризику розвитку подагри, ниркової недостатності, захворювань серцево-судинної системи. Гіперурикемія поряд з ендотеліальною дисфункцією, інсулінорезистентністю, порушенням обміну ліпідів є одним із компонентів метаболічного синдрому [6, 7]. Підвищення рівня СК у крові – частий побічний ефект лікарських засобів [7]. Проте асортимент препаратів для корекції гіперурикемії обмежений. Це обґрунтовує актуальність пошуку лікарських урикодепресивних засобів, особливо рослинного походження, які зазвичай мають широкий спектр фармакологічної активності та безпечні навіть при тривалому застосуванні. Увагу привертає яглиця звичайна (*Aegopodium podagraria L.*) – трав'яниста рослина родини селерових, яка застосовується в народній медицині для лікування подагри. Експериментально підтверджена здатність її препаратів підсилювати екскрецію уратів на тлі гіперурикемії, спричиненої в щурів уведенням калію оксонату [1]. Проте їхній вплив на пуриновий обмін може реалізуватися й за рахунок інгібування ксантиноксидази – ферменту, що відіграє провідну роль у катаболізмі пуринів, каталізує перетворення гіпоксантину в ксантин та далі в СК. Даний аспект механізму дії залишається невідомим.

Мета роботи – дослідити вплив препаратів яглиці звичайної на обмін СК у мишей, визначити провідний механізм подолання гіперурикемії та оцінити роль окремих груп біологічно активних речовин у механізмі дії сумарних препаратів рослини.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на білих рандомбредних мишах-самцях масою 20–25 г відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (2001 р.). Для моделювання гіперурикемії використано інгібітор урикази – калію оксонат [4, 5, 8, 9]. Препарати листя яглиці звичайної: екстракт (Е) у дозі 1 г/кг (екстрагент – вода), вільну від спирту настойку в дозах 1 та 5 мл/кг (Н1 та Н5 відповідно), білково-полісахаридний комплекс (БПСК) у дозі 200 мг/кг, флавоноїд 3-о-галактозид кемпферолу – трифолін (Т), виділений з сировини яглиці звичайної, у дозі 50 мг/кг та ліпофільну фракцію (ЛФ), отриману шляхом вичерпної екстракції сировини хлороформом, у дозі 100 мг/кг, а також препарат порівняння алопуринол («Sandoz», Швейцарія) у дозі 10 мг/кг [8] у вигляді суспензії вводили внутрішньошлунково протягом тижня один раз на добу. Тварини були розподілені на дві групи по сім підгруп у кожній. До І групи входили інтактні миші: 1 – інтактний контроль, 2 – Е, 3 – Н1, 4 – Н5, 5 – БПСК, 6 – Т, 7 – алопуринол. Тварини ІІ групи через годину після шостої та сьомої дози препаратів отримували внутрішньоочеревинно калію оксонат («Aldrich», Німеччина) у дозі 250 мг/кг [5, 8]. Усередині групи їх розподіляли на такі підгрупи: 1 – контроль (калію оксонат), 2 – Е + калію оксонат, 3 – Н1 + калію оксонат, 4 – Н5+ калію оксонат, 5 – БПСК + калію оксонат, 6 – Т + калію оксонат, 7 – алопуринол + калію оксонат. Для

© Колектив авторів, 2012

з'ясування механізму гіпоурикемічної дії препаратів вивчали їхній вплив на активність ксантиноксидази та ниркову екскрецію СК. Для визначення участі ниркових механізмів у дії препаратів вивчали стан видільної функції за умов водного діурезу. Після примусового випорожнення сечового міхура тваринам I групи, попередньо адаптованим до умов досліду, уводили водне навантаження (5 % від маси тіла) та вміщували до метаболічних кліток. Протягом 2 год збирали сечу та визначали в ній вміст сечової кислоти за реакцією з фосфорно-вольфрамовим реактивом та розраховували її екскрецію. Через добу тварин декапітували під легким ефірним наркозом. У плазмі крові (антикоагулянт – гепарин *in vitro*) визначали вміст сечової кислоти ферментативним (уриказним) методом. Печінку та нирки вилучали, зважували та одразу вміщували в морозильну камеру (–30 °С) до аналізу.

Аналогічну процедуру виконували з тваринами II групи, але мишей уміщували до метаболічних кліток через одну годину після ін'єкції калію оксонату. За добу тварин декапітували під легким ефірним наркозом на піку гіперурикемії – через 2 год після введення інгібітора урикази.

Одну частину печінки та нирок гомогенізували в 0,05 М калій-фосфатному буфері (KH_2PO_4) з pH 7,5 (pH відрегульована калію гідроксидом чи ортофосфорною кислотою) та використовували для визначення вмісту сечової кислоти (із фосфорно-вольфрамовим реактивом після висадження білка). Іншу частину гомогенізували в 9 об'ємах 0,05 М KH_2PO_4 буфера (pH 7,5), який містив 0,5 мМ динатрієвої солі етилендіамінтетраацетату (ЕДТА-Na) та 1 мМ контрикалу. Активність ксантиноксидази визначали спектрофотометрично з використанням 0,05 М KH_2PO_4 (pH 7,5) буфера, який містив 0,5 мМ ЕДТА-Na та 1 мМ контрикал [3]. Субстратом слугував 1,5 мМ ксантин, 1,0 мМ калію оксонат у 0,02 М натрію гідроксиді. Калію оксонат додавали для інгібування урикази. Процедура визначення: у досліджувані проби вносили 0,5 мл гомогенату (печінки чи нирок), 3 мл 0,05 М KH_2PO_4 (pH 7,5) буфера та 0,5 мл субстратного розчину ксантину. У холосту пробу замість гомогенату додавали 0,5 мл 0,05 М KH_2PO_4 буфера (pH 7,5). Кожну пробу готували в двох повторностях. У першій реакцію зупиняли шляхом депротеїнування гомогенату 100 % розчином (маса/об'єм) трихлороцтової кислоти. Другу частину проб інкубували в термостаті протягом 30 хв при 37 °С, після чого також депротеїнували. Розчини центрифугували протягом 30 хв. Оптичну густину супернатанту вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі 292 нм. Кількість СК у пробі розраховували за калібрувальною кривою. Уміст білка в гомогенаті визначали за методом Лоурі.

Одна одиниця активності ферменту була визначена як кількість ферменту, необхідна для утворення з ксантину 1 мкмоль СК за 1 хв на 1 г білка [5, 8].

Результати обробляли за міжгруповим W-критерієм Вілкоксона. Розраховували кофіцієнт кореляції (ρ) між урикемією та нирковою екскрецією СК, урикемією та активністю ксантиноксидази. Для всіх аналізів значення $P < 0,05$ уважали статистично достовірним.

Результати та їх обговорення. Усі препарати, окрім ЛФ, достовірно знижували урикемію, спричинену калію оксонатом, проте концентрація СК у крові відрізнялася від такої в групі препарату порівняння. Гіпоурикемічний ефект алопуринолу був максимальним (табл. 1).

Після курсового введення досліджуваних препаратів у інтактних тварин за умов водного навантаження на екскрецію СК впливала лише ЛФ. На тлі гіперурикемії урикозуричний ефект спостерігався майже в усіх досліджуваних препаратів. Екскреція була максимальною в групах Е, Н1 та БПСК, хоча й не досягала достовірних відмінностей від контролю. Таким чином, урикозуричний ефект є дозозалежним (виявляється під впливом Н1 і відсутній у Н5) та зумовлений біофармацевтичними чинниками (сильніший у препаратів, отриманих розчинниками більшої полярності).

Значну роль ниркового механізму регуляції урикемії підтверджує від'ем-

Таблиця 1

Вплив препаратів яглиці звичайної, трифоліну та алопуринолу на обмін сечової кислоти в мишей

Препарат	Екскреція сечової кислоти, мкмоль/10 г за 2 год	Концентрація сечової кислоти		
		у плазмі, мкмоль/л	у печінці	у нирках
			мг/г вологої тканини	
Інтактні тварини				
Інтактний контроль (n = 6–8)	0,16±0,03	0,093±0,012	0,68±0,10	0,54±0,06
Екстракт, 1 г/кг (n = 8–10)	0,16±0,02$^{\#}$	0,084±0,012$^{\#\#\#\#}$	0,65±0,06	0,32±0,04
Настойка, 1 мл/кг (n = 5–9)	0,14±0,02$^{\#}$	0,066±0,009$^{\#\#\#\#}$	0,79±0,09$^{\#}$	0,53±0,14
Настойка, 5 мл/кг (n = 9–10)	0,15±0,02$^{\#}$	0,086±0,009$^{\#\#\#\#}$	0,72±0,06	0,35±0,03
БПСК, 200 мг/кг (n = 6–9)	0,15±0,03$^{\#\#}$	0,104±0,008$^{\#\#\#\#}$	0,54±0,03	0,36±0,05
Трифолін, 50 мг/кг (n = 9–10)	0,14±0,03	0,082±0,011$^{\#\#\#\#}$	0,77±0,08$^{\#}$	0,49±0,07
Ліпофільна фракція, 100 мг/кг (n = 5–13)	0,27± 0,02$^{***/\#\#\#\#}$	0,152± 0,023$^{**/\#\#\#\#}$	0,41±0,02$^{\#\#}$	0,27±0,01***
Алопуринол, 10 мг/кг (n = 5–8)	0,08±0,02*	0,024± 0,003****	0,54±0,06	0,36±0,10
Тварини з гіперурикемією, індукованою калію оксонатом				
Контроль – калію оксонат (n = 5–8)	0,42±0,06	0,193±0,028	0,54±0,08	0,31±0,06
Екстракт 1 г/кг + калію оксонат (n = 5–6)	0,69±0,22	0,111±0,011$^{\wedge\wedge/\#\#\#\#}$	0,49±0,08	0,20±0,01^
Настойка 1 мл/кг + калію оксонат (n = 6–8)	0,58±0,10$^{\#\#\#\#}$	0,125±0,015$^{\wedge/\#\#\#\#}$	0,65±0,08	0,23±0,01
Настойка 5 мл/кг + калію оксонат (n = 5–7)	0,43±0,04	0,131±0,018$^{\wedge/\#}$	0,63±0,08	0,37±0,05$^{\#}$
БПСК 200 мг/кг + калію оксонат (n = 6–7)	0,55±0,11	0,124± 0,006$^{\wedge\wedge\wedge/\#\#\#\#}$	0,55±0,08$^{\#}$	0,32±0,05
Трифолін 50 мг/кг + калію оксонат, (n = 5–7)	0,40±0,09	0,115±0,019$^{\wedge/\#}$	0,63±0,08	0,23±0,01^
Ліпофільна фракція 100 мг/кг + калію оксонат, (n = 5–7)	0,47±0,08	0,172±0,025$^{\#\#}$	0,74±0,07^	0,28±0,05
Алопуринол 10 мг/кг + калію оксонат (n = 7–8)	0,27±0,04	0,031± 0,005$^{\wedge\wedge\wedge\wedge}$	0,66±0,05	0,21±0,03^

*Примітки. Достовірно відносно групи інтактного контролю: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,005$; **** $P < 0,001$; відносно групи калію оксонату: ^ $P < 0,05$; ^^ $P < 0,01$; ^^^ $P < 0,005$; ^^^^ $P < 0,001$; відносно групи алопуринолу: # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$; ### $P < 0,005$; #### $P < 0,001$.*

на кореляція між умістом СК у плазмі та її екскрецією ($\rho = -0,76$, $P < 0,05$) в інтактних тварин, проте за умов порушення гомеостазу (уведення калію оксонату) коефіцієнт кореляції між вмістом СК у крові та її екскрецією складає – 0,095 (рис. 1). На тлі гіперурикемії, індукованої калію оксонатом, нормальний рівень екскреції СК, але зі зміною характеру її зв'язку з рівнем урикемії на позитивний, забезпечували Н5 ($\rho = 0,82$, $P < 0,05$) та БПСК ($\rho = 0,83$, $P < 0,05$). Позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між концентрацією в крові та екскрецією СК також спостерігався в групах Н1, Е та

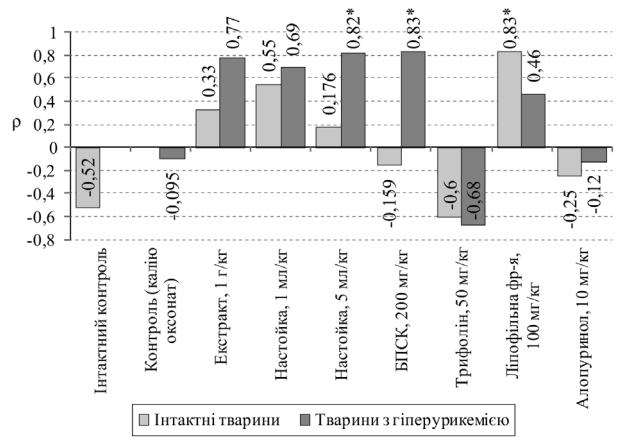

*Рис. 1. Кореляція між урикемією та екскрецією сечової кислоти під впливом препаратів яглиці звичайної, трифоліну та алопуринолу: * – статистично значущі відмінності, P < 0,05.*

відповідно. Серед досліджуваних препаратів найбільшу активність виявляли Е та Н5. Вони були однаково ефективні в нормі та на тлі гіперурикемії, знижували активність ксантиноксидази більше ніж на 60 %. Дещо меншу інгібувальну здатність мав Т – 46,7 % та 60,9 % відповідно. Н1 не спричиняла таких змін в обох групах тварин. Зниження активності ферменту під дією БПСК виявлялося лише на тлі порушеного обміну СК. Неоднозначний вплив на пуриновий обмін чинила ЛФ. В інтактних тварин збільшення екскреції СК було зумовлене зростанням її концентрації в крові ($\rho = 0,83$, $P < 0,05$) через підвищену активність ксантиноксидази. Крім того, на тлі застосування ЛФ спостерігалося значне зменшення діурезу, пов'язане з підвищенням канальцевої реабсорбції води. Наведені показники достовірно відрізнялися від таких у групі контролю. На тлі гіперурикемії ЛФ не впливала ані на концентрацію в крові, ані на екскрецію СК, проте достовірно знижувала активність ферменту на 52,2 %.

ЛФ, хоча й не сягав достовірності. Алопуринол не спричиняв таких змін. Це цілком обґрунтовано, оскільки його гіпоурикемічний ефект пов'язаний зі зменшенням синтезу СК шляхом пригнічення активності ксантиноксидази, а не зі збільшенням ниркової екскреції. Аналогічно Т на тлі зниження рівня СК у крові давав від'ємний кореляційний зв'язок між концентрацією в крові та екскрецією з сечею. Цілком імовірно, що його гіпоурикемічний ефект реалізується за рахунок впливу на синтез СК, адже значна кількість флавоноїдів має здатність пригнічувати ксантиноксидазу [5, 8, 9].

Досліджено вплив препаратів яглиці звичайної на активність ксантиноксидази, який може бути зумовлений їхнім складом (похідні гідроксикоричних кислот, кумарини, флавоноїди). Зокрема, підтверджена здатність фенольних сполук пригнічувати ксантиноксидазу [4, 5, 8, 9], проте доцільно визначити вплив сумарних препаратів та окремих фракцій – ЛФ (містить кумарини), БПСК, флавоноїду Т – на її активність.

Ефективність впливу досліджуваних препаратів на активність ксантиноксидази печінки та нирок у нормі та на тлі гіперурикемії наведено в таблиці 2. Алопуринол пригнічував активність ксантиноксидази печінки на 83,7 % і 85,9 % в інтактних тварин та на тлі введення оксонату калію

Відсоток інгібування ксантиноксидази нирок на тлі застосування препаратів був дещо нижчим, ніж у тканині печінки. Лише під дією БПСК у нормоурикемічних тварин ступінь пригнічення активності ферменту перевищувала таку в печінці майже в 3 рази. ЛФ дещо знижувала активність ксантиноксидази в нирках, на відміну від печінки.

За впливом на рівень СК у тканинах печінки всі препарати в досліджуваних дозах виявилися неефективними (табл. 1). Лише ЛФ за умов порушеного обміну пуринів достовірно збільшувала її вміст відносно групи контролю. Це може бути пов'язане зі зменшеним виходом СК у кров. Е та Т на рівні з алопуринолом достовірно знижували концентрацію СК у нирках мишей з гіперурикемією, а ЛФ у нормоурикемічних тварин.

Таблиця 2

Вплив препаратів яглиці звичайної, трифоліну та алопуринолу на активність ксантиноксидази в мишей

Препарат	Активність ксантиноксидази, мкмоль ксантину/хв · г білка		Відсоток інгібування, %	
	Печінка	Нирки	Печінка	Нирки
Інтактні тварини				
Інтактний контроль (n = 7–8)	0,92±0,10	0,64±0,07	–	–
Екстракт, 1 г/кг (n = 7–8)	0,31±0,05$^{****/\#}$	0,33±0,08***	66,3	48,4
Настойка, 1 мл/кг (n = 5–8)	0,76±0,10$^{\#\#\#\#}$	0,58±0,13$^{\#}$	17,4	9,4
Настойка, 5 мл/кг (n = 7)	0,34±0,05$^{****/\#\#}$	0,35±0,04$^{***/\#}$	63,0	45,3
БПСК, 200 мг/кг (n = 6–8)	0,78±0,15$^{\#\#\#}$	0,37±0,07**	15,2	42,2
Трифолін, 50 мг/кг (n = 8–9)	0,49±0,08$^{***/\#\#\#}$	0,46±0,11$^{**/\#}$	46,7	28,1
Ліпофільна фракція, 100 мг/кг (n = 5–6)	1,68±0,13	0,50±0,07$^{*/\#}$	–	21,9
Алопуринол, 10 мг/кг (n = 5–7)	0,15±0,15****	0,22±0,05****	83,7	65,6
Тварини з гіперурикемією, індукованою калію оксонатом				
Контроль (калію оксонат) (n = 7)	0,82±0,08	0,71±0,09	–	–
Екстракт, 1 г/кг + калію оксонат (n = 6)	0,30±0,06$^{\wedge\wedge\wedge/\#}$	0,39±0,02$^{\wedge\wedge\wedge\wedge}$	67,4	45,1
Настойка, 1 мл/кг + калію оксонат (n = 8)	0,45±0,09$^{\#\#\#\#}$	0,46±0,04$^{\wedge\wedge/\#}$	51,1	35,2
Настойка, 5 мл/кг + калію оксонат (n = 7)	0,31±0,06$^{\wedge\wedge\wedge\wedge}$	0,52±0,03$^{\wedge/\#\#\#\#}$	66,3	26,8
БПСК, 200 мг/кг + калію оксонат (n = 7)	0,33±0,1$^{\wedge\wedge\wedge}$	0,54±0,05$^{\#\#\#\#}$	64,1	23,9
Трифолін, 50 мг/кг + калію оксонат (n = 5–6)	0,36±0,1$^{\wedge\wedge}$	0,44±0,06$^{\wedge\wedge\wedge}$	60,9	38,0
Ліпофільна фракція, 100 мг/кг + калію оксонат (n = 5–6)	0,44±0,06$^{\wedge\wedge\wedge\wedge/\#\#}$	0,57±0,05$^{\wedge\wedge\wedge/\#\#}$	52,2	19,7
Алопуринол, 10 мг/кг + калію оксонат (n = 6–8)	0,13±0,03$^{\wedge\wedge\wedge\wedge}$	0,32±0,04$^{\wedge\wedge\wedge\wedge}$	85,9	54,9

*Примітки. Достовірно відносно групи інтактного контролю: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,005$; **** $P < 0,001$; відносно групи калію оксонату: ^ $P < 0,05$; ^^ $P < 0,01$; ^^^ $P < 0,005$; ^^^^ $P < 0,001$; відносно групи алопуринолу: # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$; ### $P < 0,005$; #### $P < 0,001$.*

Отже, зменшення в крові рівня СК під дією Н1 реалізується переважно за рахунок ниркових механізмів, під дією Т та Н5 – за рахунок інгібування ксантиноксидази. Вплив Е та БПСК на урикемію пов'язаний як із підвищенням ниркової екскреції СК, так і з пригніченням ферменту.

Таким чином, препарати яглиці звичайної виявляють сприятливий вплив на пуриновий обмін, що обґрунтовує доцільність їхнього застосування при подагрі та безсимптомних формах гіперурикемії.

Висновки

1. Екстракт (1 г/кг), настойка (1 та 5 мл/кг), білково-полісахаридний комплекс (200 мг/кг) листя яглиці звичайної та флавоноїд 3-о-галактозид кемпферолу (трифолін) чинять позитивний вплив на пуриновий обмін, знижують рівень сечової кислоти в крові за рахунок пригнічення її синтезу та підвищення ниркової екскреції в нормі та за гіперурикемії, індукованої калію оксонатом.

2. Гіпоурикемічна дія настойки листя яглиці звичайної (1 мл/кг) пов'язана з її урикозуричною активністю. Трифолін (50 мг/кг) та настойка (5 мл/кг) пригнічують активність ксантиноксидази. Екстракт (1 г/кг) та білково-полісахаридний комплекс поєднують обидва механізми подолання гіперурикемії.
3. Вираженість окремих механізмів гіпоурикемічної дії залежить від способу отримання препаратів яглиці звичайної, їхнього складу, дози, відрізняється в нормі та за гіперурикемії.

1. *Товчига О. В.* Вивчення гіпоурикемічних, урикозуричних і протизапальних властивостей препаратів Aegopodium podagraria L / О. В. Товчига // Фармаком.– 2008.– № 2.– С. 77–82.
2. *Товчига О. В.* Получение, анализ, исследование острой токсичности и ренальных эффектов настойки сныти обыкновенной (Aegopodium podagraria L.) / О. В. Товчига, С. Ю. Штрыголь, С. И. Степанова [и др.] // Запорожский медицинский журнал.– 2005.– Т. 28, № 1.– С. 121–124.
3. *Chen X. B.* Urinary excretion of purine derivatives and tissue xanthine oxidase (EC 1.2.3.2) activity in buffaloes (Bubalis bubalis) with special reference to differences between buffaloes and Bos taurus cattle / X. B. Chen, L. Samaraweera, D. J. Kyle, E. R. Orskov // British Journal of Nutrition.– 1996.– № 15.– P. 397–407.
4. *Ding Z.* Hypouricemic action of scopoletin arising from xanthine oxidase inhibition and uricosuric activity / Z. Ding,Y. Dai, Z. Wang // Planta Med.– 2005.– V. 71, № 2.– P. 183–185.
5. *Huang C. G.* Hypouricemic effects of phenylpropanoid glycosides acteoside of Scrophularia ningpoensis on serum uric acid levels in potassium oxonate-pretreated mice / C. G. Huang, Y. J. Shang, J. Zhang, J. R. Zhang [et al.] // The American Journal of Chinese Medicine.– V. 36, № 1.– P. 149–157.
6. *Kutzing MK.* Altered uric acid levels and disease states / MK. Kutzing, BL. Firestein // J Pharmacol Exp Ther.– 2008.– V. 324.– P. 1–7.
7. *Luk AJ.* Epidemiology of hyperuricemia and gout / AJ. PA. Luk, Simkin // Am J Manag Care.– 2005.– № 11.– P. 435–442.
8. Hypouricemic action of selected flavonoids in mise: structure–activity relatinonships / Mo S.-F., Zhou F., Y.– Z. Lv [et all.] // Biol. Pharm. Bull.– 2007.– V. 5, № 4.– P. 397–406.
9. *Yu Z.* The dual actions of morin (3, 5, 7, 2', 4'-pentahydroxyflavone) as a hypouricemic agent: uricosuric effect and xanthine oxidase inhibitory activity / Z. Yu, W. P. Fong, C. H. Cheng // J. Pharmacol. Exp. Ther.– 2006.– V. 316, № 1.– P. 169–175.

О. О. Койро, С. Ю. Штрыголь

Влияние препаратов сныти обыкновенной (*Aegopodium podagraria L.*) и 3-о-галактозида кемпферола на обмен мочевой кислоты у мышей в норме и при гиперурикемии

Экстракт (1 г/кг), настойка (1 и 5 мл/кг), белково-полисахаридный комплекс (200 мг/кг) листьев сныти обыкновенной и флавоноид 3-о-галактозид кемпферола (трифолин) снижают уровень мочевой кислоты в крови мышей с гиперурикемией, индуцированной калия оксонатом. Гипоурикемическое действие настойки (1 мл/кг) связано преимущественно с увеличением почечной экскреции мочевой кислоты. Трифолин (50 мг/кг) и настойка (5 мл/кг) подавляют активность ксантиноксидазы. Экстракт (1 г/кг) и белково-полисахаридный комплекс (200 мг/кг) сочетают оба механизма преодоления гиперурикемии.

Ключевые слова: сныть обыкновенная, экстракт, настойка, 3-о-галактозид кемпферола, гипоурикемическая активность, ксантиноксидаза

O. O. Koyro, S. Yu. Shtrygol`

Influence of the goutweed (*Aegopodium podagraria L.*) preparations and kaempferol 3-0-galactoside on uric acid exchange in normal and hyperuricemic mice

The extract (1 g/kg), the tincture (1 and 5 ml/kg), the protein-polysaccharide complex (200 mg/kg) of the goutweed leaves and flavonoid kaempferol 3-0-galactoside (trifolin) reduce blood uric acid level in potassium oxonate-pretreated mice. Hypouricemic effect of the tincture (1 ml/kg) arises from an increase in renal uric acid excretion. Trifolin (50 mg/kg) and the tincture (5 ml/kg) inhibit xanthine oxidase activity. The extract (1 g/kg) and the protein-polysaccharide complex (200 mg/kg) combine both mechanisms of hyperuricemia overcoming.

Key words: goutweed, extract, tincture, kaempferol 3-o-galactoside, hypouricemic activity, xanthine oxidase

Надійшла: 10.02.2012 р.

Контактна особа: Койро Ольга Олегівна, аспірант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002. Тел.: (57) 706-30-69. E-mail: olgaokoyro@mail.ua

УДК 615.254:612.465

Н. Д. Філіпець

Вплив флокаліну на деякі показники екскреторної функції нирок за умов сольового навантаження

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Ключові слова: флокалін, функція нирок, сольове навантаження

Сучасна медикаментозна терапія ґрунтується на застосуванні лікарських засобів із широкими фармакодинамічними можливостями. Пріоритетною в цьому напрямі є група модуляторів іонних каналів. Природна неоднорідність та різноманітна функціональна роль мембранних K^+-, Na^+-, Ca^{2+}- каналів обумовлює значимість саме таких препаратів, і спонукає на подальші дослідження фармакологічних сполук, механізм яких опосередковується через іонні канали клітин [10, 12, 13]. У зв'язку з цим актуальним є отримання нових відомостей про спектр дії фторвмісного відкривача аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів ($K_{АТФ}$-каналів) флокаліну, який синтезовано співробітниками Інституту органічної хімії НАН України [6]. Дані експериментальних досліджень вітчизняних науковців дозволяють розглядати флокалін як потенційний засіб лікування гіперактивності сечового міхура [5], патологічних станів серця, судин, головного мозку [2, 8, 14]. Наше попереднє вивчення ренальних властивостей флокаліну показало діуретичний ефект після введення препарату за умов гіпергідратації організму білих щурів водним навантаженням. При цьому збільшувалася швидкість клубочкової фільтрації, знижувався транспорт іонів натрію в дистальному відділі нефрону, зменшувався калійуриез [9]. Відомо, що ниркові реакції підтримки водно-сольового балансу залежать від об'єму та складу рідини в організмі [3]. Тому логічним є передбачення змін функціонального стану нирок після активації $K_{АТФ}$-каналів флокаліном за умов сольового навантаження, яке збільшує вміст осмотично активних катіонів у організмі.

Мета дослідження – вивчення змін деяких показників екскреторної функції нирок білих щурів після разового введення фторвмісного активатора $K_{АТФ}$-каналів флокаліну за умов сольового навантаження.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на лабораторних білих щурах масою 0,16–0,18 кг, яких утримували на гіпонатрієвому режимі харчування з вільним доступом до відстояної водогінної води. Флокалін [6] уводили внутрішньошлунково разово за допомогою зонду в дозах 5 мг/кг (I група щурів) та 10 мг/кг (II група) на 1 % слизу крохмалю в об'ємі 5 мл/кг маси тіла. Контрольні тварини отримували аналогічну кількість розчинника. Через 30 хв після останнього введення флокаліну всім щурам проводили сольове навантаження (внутрішньошлунково, 0,45 % розчин NaCl в кількості 3 % від маси тіла). Діурез реєстрували через 2 год. Евтаназію тварин проводили під барбітуровим наркозом (1 % розчин етаміналу натрію, 20 мг/кг) відповідно до правил Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин [11]. У сечі та плазмі крові визначали вміст іонів натрію та калію за методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1. Концентрацію креатиніну в сечі визначали за методом Фоліна, у плазмі крові – за методом Попера в модифікації Мерзона [1] за реакцією з пікриновою кислотою з наступним колориметруванням на спектрофотометрі СФ-46. Білок у сечі визначали за реакцією з сульфосаліциловою кислотою [4]. Показники стандартизували та визначали за загальновизнаними формулами [7]. Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми «Statgrafics» з використанням t-критерію Ст'юдента. Значення $P < 0,05$ розглядали як статистично достовірні.

© Н. Д. Філіпець, 2012

Результати та їх обговорення. Отримані результати показують, що після разового введення флокаліну за умов сольового навантаження виділення сечі в дослідних щурів не змінювалось (таблиця). Зменшення вмісту креатиніну в сечі та його підвищення в плазмі крові спричинили падіння показника концентраційного індексу ендогенного креатиніну, особливо в II групі (у 1,7 разу). Екскреція креатиніну також знижувалася в більшій мірі при збільшенні дози препарату – у 1,2 разу порівняно з контролем і в 1,15 разу порівняно з I групою. Указані зміни відобразилися на реакції клубочкового сектора нефрону. Зниження швидкості клубочкової фільтрації було суттєвішим у II групі – у 1,7 разу.

Результати дослідження змін умісту осмотично активних катіонів показує (таблиця), що при введенні обох доз флокаліну концентрація іонів калію в плазмі крові зростає в обох групах у 1,2 та 1,4 разу відповідно. Під впливом більшої дози цей показник у II групі вірогідно перевищував значення в I групі. У всіх досліджуваних щурів майже в 2 рази підвищується концентрація іонів калію в сечі та калійурез.

Концентрація іонів натрію в плазмі крові після активації $К_{АТФ}$-каналів за умов сольового навантаження не змінювалась. За рахунок зниження швидкості клубочкової фільтрації зменшувалося фільтраційне завантаження нефрону іонами натрію. Фільтраційний заряд іонів натрію був нижче за контрольний показник у 1,3 разу в I групі та в 1,7 разу в II групі щурів. Уміст цього катіону в сечі та натрійурез за 2 год майже однаково зменшувався в обох групах: у 3,6 та 3,5 разу відповідно. Кліренс іонів натрію зменшувався в 3,4 разу в обох групах незалежно від дози та однаково збільшувався кліренс безнатрієвої води.

Аналіз канальцевого транспорту іонів натрію показує (таблиця), що за відсутності вірогідних змін у дистальному відділі нефрону має місце зниження проксимальної натрієвої реабсорбції в 1,3 разу в I групі та в 1,8 разу в II групі. На такі самі величини зменшувався показник абсолютної реабсорбції іонів натрію. Відносна натрієва реабсорбція під впливом флокаліну зростала. Характеристика стандартизованих за клубочковою фільтрацією даних свідчить також про більш виражене пригнічення проксимальної реабсорбції іонів натрію у щурів II групи. Дистальний транспорт іонів натрію збільшувався в 1,4 разу в I групі та в 1,8 разу в II групі.

Отримані результати можна пояснити активацією флокаліном КАТФ-каналів ендотелію кровоносних судин, що призводить до потужної вазодилатації. Розширення приносної та, імовірно, виносної артеріоли нирок зменшує опір кровотоку та рівень необхідного для фільтраційних процесів тиску. Відомо, що фторвмісні активатори $К_{АТФ}$-каналів концентраційнозалежним чином зменшують скорочувальну активність судин [5]. Наслідком є знижена реакція клубочкового сектора нефрону з наявністю дозозалежного впливу флокаліну на швидкість клубочкової фільтрації. Зберігається проникність ниркового фільтру, про що свідчить зниження протеїнурії.

Пригнічення канальцевої реабсорбції води під впливом флокаліну забезпечує стабільність діурезу за умов падіння швидкості клубочкової фільтрації. Збільшення кліренсу безнатрієвої води показує перевагу водного компоненту сечі.

Екскреція осмотично активних речовин залежить не тільки від їхнього канальцевого завантаження, але й від особливостей транстубулярного транспорту. Калійуретичний ефект може бути зумовлений як підвищенням дистальної секреції іонів калію, так і зниженням його реабсорбції після разового введення флокаліну.

Незважаючи на дозозалежне зниження проксимального транспорту іонів натрію, показники абсолютної та відносної натрієвої реабсорбції в щурів обох груп збільшуються. Спрацьовують механізми, направлені на підтримку артеріального тиску та кровотоку в нирках. Зменшення натрійурезу, збільшення дистальної реабсорбції цього катіону та посилення калійурезу можна пояснити компенсаторною активацію ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. При цьому стабільність діурезу та затримка частини іонів натрію направлені на збереження водних компартментів організму та характеризують флокалін як засіб підтримки функціо-

Таблиця

Вплив разового введення флокаліну на деякі показники екскреторної функції нирок білих щурів за умов сольового навантаження (x ± Sx, n = 6)

Показники, що вивчалися	Контроль	Флокалін 5 мг/кг (I група)	Флокалін 10 мг/кг (II група)
Діурез, мл/2 год	3,00 ± 0,01	3,00 ± 3,70	3,00 ± 7,40
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну, од	28,90 ± 1,51	22,90 ± 2,69	16,90 ± 1,74*
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	4,00 ± 0,13	3,80 ± 0,04	3,390 ± 0,11* **
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	723,10 ± 37,86	572,50 ± 67,36	423,890 ± 43,53*
Відносна реабсорбція води, %	96,50 ± 0,17	95,20 ± 0,46*	93,890 ± 0,64*
Концентрація білка в сечі, г/л	0,0200 ± 0,0002	0,0090 ± 0,0011*	0,00490 ± 0,0006*
Екскреція білка, мг/2 год	0,060 ± 0,007	0,030 ± 0,003*	0,010 ± 0,002*
Концентрація K^+ у плазмі крові, ммоль/л	5,00 ± 0,07	6,10 ± 0,25*	6,70± 0,16* **
Концентрація K^+в сечі, ммоль/л	18,30± 1,94	35,60 ± 6,36*	34,90± 5,37*
Екскреція K^+, мкмоль/2 год	55,00 ± 5,83	106,70 ± 19,08*	104,70 ± 16,12*
Концентрація Na^+у плазмі крові, ммоль/л	127,80 ± 1,94	126,70 ± 2,36	125,83 ±0,97
Концентрація Na^+у сечі, ммоль/л	1,340 ± 0,094	0,370 ± 0,028*	0,380 ± 0,030*
Екскреція Na^+, мкмоль/2 год	4,020 ± 0,283	1,100 ± 0,038*	1,150 ± 0,092*
Фільтраційний заряд Na+, кмоль/хв	92,60 ± 5,68	72,00 ± 7,77*	53,30 ± 5,47*
Абсолютна реабсорбція Na^+, мкмоль/хв	92,60 ± 5,69	72,00 ± 7,77*	53,30 ± 5,47*
Відносна реабсорбція Na^+, %	99,960 ± 0,003	99,990 ± 0,001*	99,980 ± 0,002*
Кліренс Na^+, мл/2 год	0,030 ± 0,002	0,010 ± 0,001*	0,010 ± 0,001*
Кліренс безнатрієвої води, мл/2 год	2,960 ± 0,002	2,990 ± 0,001*	2,990 ± 0,001*
Проксимальний транспорт Na^+, ммоль/2 год	10,70 ± 0,67	8,30 ± 0,94*	6,00 ± 0,66*
Дистальний транспорт Na^+, ммоль/2 год	379,70 ± 6,00	387,90 ± 7,07	376,30 ± 2,95
Проксимальний транспорт Na^+, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	12,30 ± 0,20	12,10 ± 0,19	11, 80 ± 0,10*
Дистальний транспорт Na^+, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,44 ± 0,02	0,60 ± 0,07*	0,78 ± 0,08*

*Примітка. * вірогідність порівняно з контролем; ** вірогідність порівняно з I групою.*

нальних резервів нирок за умов навантаження організму щурів розчином з високим осмотичним тиском.

Висновки

1. Після разового введення флокаліну в дозах 5 мк/кг, 10 мг/кг за умов сольового навантаження діурез не змінюється, без переважного дозозалежного впливу зменшується натрійурез, підвищується калійурез.
2. Введення флокаліну в дозі 10 мг/кг призводить до більш вираженого в порівнянні з дозою 5 мг/кг зниження показників клубочкової фільтрації, проксимальної канальцієвої реабсорбції та підвищення дистального транспорту іонів натрію.
3. Збереження резервних можливостей нирок у підтримці водно-сольової рівноваги після введення флокаліну за умов навантаження розчином хлориду натрію підтверджує доцільність подальшого дослідження ренальної дії нового фторвмісного активатора $К_{АТФ}$-каналів.

1. *Берхин Е. Б.* Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов.– Барнаул: Алтайское книжн. изд-во, 1972.– 199 с.
2. *Денисюк О. М*. Порівняльний вплив флокаліну та мексидолу на перебіг біоенергетичних процесів при гострій експериментальній ішемії головного мозку / О. М. Денисюк // Бук. мед. вісник.– 2011.– Т. 15, № 1.– С. 131–133.
3. *Лебедева Т. Л*. Состояние гомеостатических функций почек при водно-солевых нагрузках / Т. Л. Лебедева // Актуальные проблемы транспортной медицины.– 2011.– № 2.– С. 93–96.
4. *Михеева А. И.* Сульфосалициловый метод определения белка в моче / А. И. Михеева, И. А. Богодарова // Лаб. дело.– 1969.– № 7.– С. 441–442.
5. *Мохорт Н. А.* Влияние новых фторсодержащих аналогов пинацидила на сократительную активность мочевого пузыря и тонус сосудов / Н. А. Мохорт, И. В. Самарская, Л. М. Ягупольский // Эксперим. и клин. фармакол.– 2007.– Т. 70, № 4.– С. 32–34.
6. Організація заводського виготовлення препарату Флокалін – нового вітчизняного міотропного спазмолітика і кардіопротектора / О. О. Мойбенко, Р. Б. Струтинський, Л. М. Ягупольський [та ін.] // Наука та інновації.– 2009.– Т. 5, № 1.– С. 80–84.
7. *Рябов С. И.* Функциональная нефрология / С. М. Рябов, Ю. В. Наточин.– СПб: Лань, 1997.– 304 с.
8. *Струтинський Р. Б.* Вплив нового активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на зміни вмісту глюкози в крові / Р. Б. Струтинський, Р. А. Ровенець, О. П. Нещерет // Фізіол. журн.– 2010.– Т. 56, № 6.– С. 39–47.
9. *Філіпець Н. Д*. Вплив активатора калієвих каналів флокаліну на функціональний стан нирок за умов експериментальної гідратації організму/ Н. Д. Філіпець // Фармакологія та лікарська токсикологія: матер. IV Нац. з'їзду фармакологів України.– 2011.– № 5.– С. 327–328.
10. *Camerino D. C.* / Ion Channel Pharmacology / D. C.Camerivo, D. Tricarico, J-F. Desaphy // Neurotherapeutics.– 2007.– V. 4.– P. 184–198.
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.– Council of Europe.– Strasburg, 1986.– (123).– 52 p.
12. Ion-channel modulators: more diversity than previonsly thought / S. Dilly, C. Lamy, Nv. Marrio [et al.] // ChemBiochem.– 2011.– № 12 (12).– P. 1808–1812.
13. *Talassum N.* Ion channels and their modulation / N. Talassum, A. Feroz // JAPS.– 2011.– № 1 (01).– P. 20–25.
14. *Voitychuk O. I*. Effects of ATP-Dependent Potassium Channel Activator Flocalin Include Sodium and Calcium Channels Inhibition in Cardiomyocytes / O. I. Voitychuk, R. B. Srutyns'kyi, Y. M. Shuba // Biophysical J.– 2010.– V. 100, № 3, Suppl. 1.– P. 433 a.

Н. Д. Филипец

Влияние флокалина на некоторые показатели экскреторной функции почек в условиях солевой нагрузки

Исследовано влияние нового отечественного фторсодержащего активатора АТФ-чувствительных калиевых каналов флокалина на показатели экскреторной функции почек белых крыс. Установлено, что после разового введения флокалина в дозах 5 мг/кг, 10 мг/кг в условиях солевой нагрузки не изменяется диурез, повышается калийурез, понижается натрийурез. При увеличении дозы существеннее снижается скорость клубочковой фильтрации, проксимальная натриевая реабсорбция и повышается дистальный транспорт ионов натрия. Задержка части воды и ионов натрия свидетельствует о сохранении возможностей почек поддерживать водно-солевой баланс при солевой нагрузке после введения флокалина.

Ключевые слова: флокалин, функция почек, солевая нагрузка

N. D. Filipets

The influence of Flocalin on some indexes of kidney excretion under conditions of salt loading

The influence of a new fluorine-containing ATP-sensitive potassium channels activator Flocalin on kidney excretion indexes in white rats has been studied. It has been stated that after a single administration of Flocalin in the dose of 5 mg/kg, 10 mg/kg under salt loading the diuresis remains stable, potassium excretion increases and sodium excretion decreases. Increase of the dose leads to decrease of glomerular filtration rate and proximal sodium reabsorbtion, to increase of distal sodium ions transport. Partial retention of water and sodium ions is an evidence of the preserved ability of kidneys to maintain water-salt balance under conditions of salt loading after Flocalin administration.

Key words: Flocalin, kidney function, salt loading

Надійшла: 23.01.2012 р.

Контактна особа: Філіпець Наталія Дмитрівна, канд. мед. наук, доцент, кафедра фармакології, Буковинський державний медичний університет, площа Театральна, 2, м. Чернівці, 58002. Тел.: (3722) 3-52-62. E-mail:o.filipets@gmail.com

УДК 577.151.63:612.396.22

О. І. Харченко, Л. І. Богун, Л. І. Остапченко

Уміст цинку в клітинах різних органів щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та за умов застосування оцтовокислого цинку

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Ключові слова: хронічна алкогольна інтоксикація, оцтовокислий цинк, сироватка крові, клітини печінки та мозку

Проблема алкоголізму протягом багатьох століть була, залишається і, вочевидь, ще довго буде актуальною для людства як у соціальному, так і в медичному плані. Гостра й хронічна алкогольна інтоксикація (ХАІ) супроводжується ураженням центральної нервової системи, ослабленою мозковою активністю, недостатньою координацією рухів, що спричинені порушенням обміну таких нейромедіаторів як серотонін, глутамат, γ-аміномасляна кислота, ендоканабіноїди тощо [1]. Зловживання спиртними напоями зумовлює функціональне виснаження органів шлунково-кишкового тракту, печінки, підшлункової залози, серцево-судинної, імунної, ендокринної систем тощо [2].

У механізмах розвитку ХАІ лежать глибокі зміни метаболізму, спричинені розладом функціонування різних метаболічних шляхів, порушенням водно-електролітної рівноваги, зниженням умісту певних мікроелементів в органах та тканинах хворих. Одним з найважливіших есенціальних мікроелементів, необхідних для нормального функціонування клітини, є цинк, що входить до складу великої кількості білків та ферментів. Оскільки алкоголь- та альдегіддегідрогенази (АДГ, АлДГ) – основні ферменти метаболізму етанолу – містять іони цинку, можна припустити, що цей мікроелемент відіграє певну роль у розвитку ХАІ.

З метою корекції дефіциту цинку використовують його солі, серед яких низькою токсичністю характеризується оцтовокислий цинк [3]. Однак на сьогодні практично відсутні дослідження ефективності даної сполуки щодо коригування метаболічних змін на ранніх етапах розвитку ХАІ. *Мета дослідження* – визначити вміст цинку в клітинах різних органів та тканин щурів у динаміці розвитку ХАІ та при введенні оцтовокислого цинку.

Матеріали та методи. У дослідах використовували самців білих лабораторних нелінійних щурів із початковою масою 160 г. Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації в піддослідних тварин відтворювали внутрішньошлунковим введенням 40° етилового спирту з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини раз на добу протягом 21 дня [4]. Одночасно з етанолом тварини отримували внутрішньошлунково оцтовокислий цинк у дозі 20 мг на 1 кг маси тварини [5], що значно менше середньолетальної дози для білих щурів (LD_{50} = 278 ± 49 мг/кг) [6]. Уміст цинку в тканинах визначали методом атомно-адсорбційної спектрофотометрії [7].

Тварин було розподілено на 3 групи: 1 – контрольні тварини; 2 – щури з ХАІ; 3 – щури з ХАІ, яким додатково вводили оцтовокислий цинк. Проби тканин для аналізу відбирали на 4, 7, 11, 16 та 21 добу розвитку ХАІ. Загальну фракцію гепатоцитів щурів отримували за модифікованою методикою [8]. Гомогенат клітин мозку отримували методом [9]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики, на основі 7–12 повторів (M ± m, n = 7–12) [10].

Результати та їх обговорення. Відомо, що нестача цинку часто зустрічається в людей, які зловживають алкоголем, і виникає дефіцит не тільки внаслідок неповноцінного харчування, а й тому, що цинк використовується організмом

© Колектив авторів, 2012

для активації систем розщеплення й детоксикації алкоголю. У сучасних роботах показано зниження вмісту цинку в гепатоцитах щурів, які отримували 15 % розчин етанолу протягом 20 днів [11]. У численних дослідженнях закордонних авторів показано, що низький уміст у сироватці крові цинку є типовим, особливо, при наявності алкогольного гепатиту або цирозу [12, 13].

Дефіцит цинку може лежати в основі розвитку ХАІ. Показано, що щури з нестачею цинку в організмі обирають алкоголь частіше, ніж щури, в яких не спостерігався його дефіцит [14]. Установлено, що дефіцит цинку в людей посилює потяг до алкоголю й, навпаки, шанси подолати алкогольну залежність зростають, якщо харчовий раціон уміщує необхідну кількість цинку [15].

Нами встановлено, що за умов ХАІ вміст цинку в гепатоцитах щурів на 4-ту та 7-му добу знаходився в межах контрольних значень. У подальшому, на 11-ту, 16-ту та 21-шу добу вміст досліджуваного мікроелемента поступово знижувався порівняно з контролем у 1,5; 1,7 та 1,9 разів відповідно, (рис. 1).

Уведення оцтовокислого цинку за умов ХАІ не впливало на його вміст на 4-ту та 7-му добу експерименту та приводило до зростання вмісту цинку в гепатоцитах щурів на більш пізніх етапах дослідження: на 11-ту, 16-ту й 21-шу добу показник порівняно з контрольними значеннями був вищим у 1,3; 1,4 і 1,5 разів відповідно.

У сироватці крові щурів з ХАІ було виявлено поступове зниження вмісту цинку протягом усіх етапів дослідження. Найбільше падіння його вмісту порівняно з контролем спостерігали на 16-ту добу – у 3,2 та на 21-шу в 3,7 разів відповідно (рис. 2).

За умов ХАІ введення оцтовокислого цинку вміст цинку в сироватці крові щурів зростав протягом усіх етапів дослідження. Найсуттєвіше його вміст збільшився на 11-ту, 16-ту та 21-шу добу дослідження в 3; 4,4 та 4,9 разів відповідно відносно контрольних значень.

При дослідженні впливу етанолу на вміст цинку в клітинах мозку щурів було встановлено, що на ранніх етапах дослідження (4-та і 7-ма доба) його вміст суттєво не відрізнявся від контрольних показників. У подальшому відбувалося різке падіння вмісту даного мікроелемента в 2,3; 2,2 і 2,6 разів на 11-ту, 16-ту та 21-шу добу відповідно відносно контролю (рис. 3). При введенні оцтовокислого цинку за умов ХАІ було встановлено поступове зростання вмісту цинку протягом усіх етапів експерименту. На 11-ту, 16-ту та 21-шу добу його вміст був вищим від контрольних значень у 1,3; 1,2 та 1,4 разів відповідно.

Отже, при ХАІ в усіх досліджуваних об'єктах відбувалося зниження вмісту цинку, у той час як за умов уведення оцтовокислого цинку спостерігали накопичення даного мікроелемента.

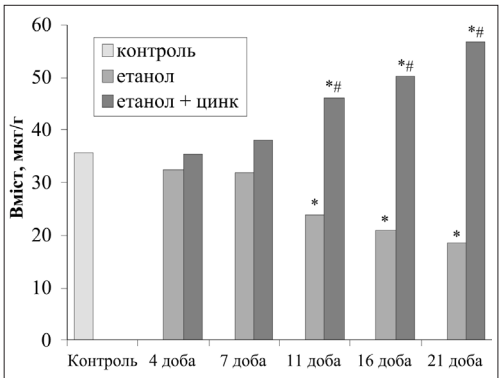

Рис. 1. Уміст цинку в гепатоцитах щурів при ХАІ та за умов введення оцтовокислого цинку.
** P ≤ 0,05 порівняно з контролем;*
 # P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю.

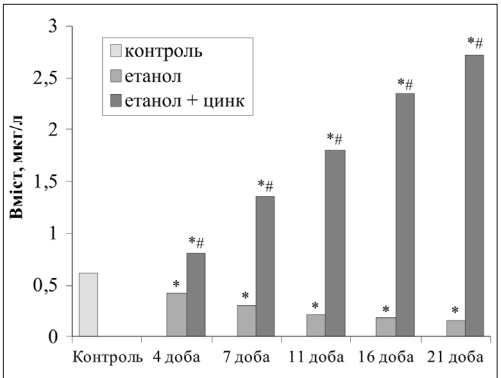

Рис. 2. Уміст цинку в сироватці крові щурів при ХАІ та за умов введення оцтовокислого цинку.
** P ≤ 0,05 порівняно з контролем;*
 # P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю.

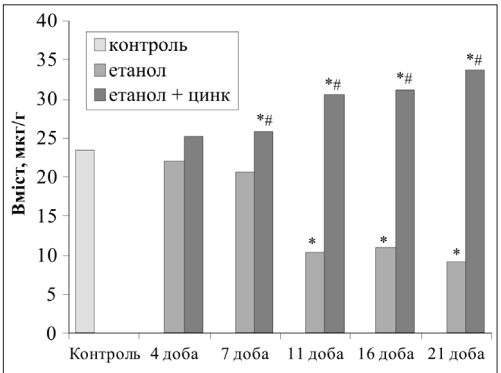

Рис. 3. Уміст цинку в клітинах мозку щурів при ХАІ та за умов введення оцтовокислого цинку.
** P ≤ 0,05 порівняно з контролем;*
 # P ≤ 0,05 порівняно з експериментальною моделлю.

Цинк відіграє суттєве фізіологічне значення при кератогенезі, збереженні цілісності епітелію, рості, розмноженні, ліпідному обміні, імуногенезі [16]. Цей елемент є активатором оксидоредуктаз, трансфераз і гідролаз: він необхідний для багатьох процесів обміну речовин [17]. Зниження рівня магнію та цинку в гіпертрофічно зміненій кістковій тканині свідчить про їхню участь у загальних механізмах мінералізації кісткової тканини [18].

Крім того, відомо, що цинк стимулює утворення полісом, гальмує вільнорадикальне окиснення [17], активує синтез ДНК, РНК і білків, стимулює процеси регенерації [16]. Дефіцит цинку несприятливо позначається на еритропоезі та утворенні гемоглобіну, розмноженні, рості. Сьогодні досліджується зв'язок цинку з функцією Т-лімфоцитів і тимопоетину, тобто передбачається його участь у формуванні імунної відповіді організму. Цинк підвищує фагоцитарну активність крові [19].

Натепер цинк визнаний дослідниками найважливішим елементом, що запобігає розвитку апоптозу, хоча точний механізм його дії поки що залишається нез'ясованим [1].

Особливо слід відзначити вплив цинку на активність багатьох ферментів і металоферментних систем. Установлено, що цинк входить до складу понад 70 металоензимів [19]. Цинкзалежними є лактатдегідрогеназа, ДНК- і РНК-полімерази, тимідинкіназа, що відіграють головну роль у метаболізмі нуклеїнових кислот і білка.

Висновок

Таким чином, встановлено, що розвиток ХАІ супроводжується поступовим зниженням умісту цинку в гепатоцитах, клітинах мозку та сироватці крові щурів. Уведення оцтовокислого цинку приводить не лише до поповнення утвореного дефіциту, а й до накопичення цього елемента в досліджуваних органах та тканинах. Тому можна вважати перспективним його застосування для корекції метаболічних уражень, що виникають під час розвитку алкогольної інтоксикації. Це може бути основою розробки нових засобів для профілактики та лікування алкогольної залежності.

1. *Sachin M.* Neuroscience of alcoholism: molecular and cellular mechanisms / Sachin M., Starkman B., Sakharkar A. // Cell. Mol. Life Sci.– 2010.– V. 67.– P. 73–88.
2. *Manzo-Avalos S.* Cellular and Mitochondrial Effects of Alcohol Consumption / Manzo-Avalos S., Saavedra-Molina A. // Int. J. Environ. Res. Public Health.– 2010.– V. 7.– P. 4281–4304.
3. *Кудрин А. В.* Роль микроэлементов и кальция в регуляции апоптоза / Кудрин А. В., Жаворонков А. А. // Успехи современной биологии.– 1998.– Т. 118, № 5.– С. 623–629.
4. *Халилов М. Х.* К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации / Халилов М. Х., Закихорджаев Ш. Я. // Вопросы клиники алкоголизма: Сб. науч. тр.– Ташкент, 1983.– С. 38–41.
5. *Ещенко Ю. А.* Вміст цинку в клітинах при різних функціональних станах інсулярного апарата підшлункової залози // Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин».– Київ, 2004.– 19 с.
6. *Павлович Л. В.* Біологічна дія оцтовокислих кальцію, кобальту і цинку та їх гігієнічне нормування в атмосферному повітрі населених місць // Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 14.02.01 «Гігієна».– Київ, 2000.– 18 с.
7. *Ермаченко Л. А.* Атомно-адсорбционный анализ в санитарно-гигиенических иисследованиях / Ермаченко Л. А., Ермаченко В. М.– М.: «Чувашия», 1997.– С.48–84.
8. Выделение гепатоцитов крыс неферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активность / Петренко А. Ю., Сукач А. Н., Росляков А. Д. // Биохимия.– 1991.– Т. 56, Вып. 9.– С. 1647–1650.

9. Антиоксидантная эффективность α-липоевой кислоты при обратимой ишемии мозга / Одинак М. М., Вознюк И. А., Мельникова Е. В. [и др.] // Неврология.– 2007.– Т. 9.– № 8.– С. 18–21.
10. *Брандт З.* Статистические методы анализа наблюдений / З. Брандт.– М.: Мир, 1975.– 312 с.
11. *Скальный А. В*. Влияние цинка на активность этанолокисляющих ферментов потомков алкоголизированных крыс / Скальный А. В., Кампов-Полевой А. Б., Воронин А. Е. // Микроэл. в медицине.– 2002.– № 2.– С. 21–23.
12. Nutritional deficiencies in German middle-class male alcohol consumers: relation to dietary intake and severity of liver disease / Bergheim I., Parlesak A., Dierks C. [et al.] // Eur J Clin Nutr.– 2003 Mar.– № 57 (3) – P. 431–438.
13. Changes in serum retinol, alphatocopherol, vitamin C, carotenoids, zinc and selenium after micronutrient supplementation during alcohol rehabilitation / Gueguen S., Pirollet P., Leroy P. [et al.] // Journal of the American College of Nutrition.– 2003, Aug.– № 22 (4).– P. 303–310.
14. Decreasing ethanol consumption in ethanol-dependent rats through supplementation of zinc and copper amino acid chelates: a preliminary study / Ashmead, H. DeWayne, Graff [et al.] // J of Applied Research.– 2006.– № 1.– P. 19– 27.
15. Effect of zinc on hepatic drug metabolism under ethanol toxicity / Pathak A., Mahmood A., Pathak R., Dhawan D. // Drug Chem Toxicol.– 2008.– V. 31, № 1.– P. 163–173.
16. *Клименко А. А.* Влияние дефицита цинка в организме животных на активность некоторых металлоферментов, нуклеаз и содержание нуклеиновых кислот / Клименко А. А. // Мат. V Всес. биохим. съезда.– М., 1986.– Т. 3.– С. 340.
17. Микроэлементозы человека / Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А. [и др.].– М.: Медицина, 1991.– 496 с.
18. *Кения М. В*. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / Кения М. В., Лукаш А. И., Гуськов Е. П. // Успехи современной биологии.– 1993.– Т. 113, Вып. 3.– С. 456–470.
19. Роль микроэлементов при парентеральном питании / Степаненко В. В., Липкан Г. Н., Короткоручко А. Г. [и др.] // Вестник хирургии.– 1991.– Т. 146, № 4.– С. 147–149.

О. И. Харченко, Л. И. Богун, Л. И. Остапченко

Содержание цинка в клетках различных органов крыс при хронической алкогольной интоксикации и применении уксуснокислого цинка

Работа посвящена изучению содержания цинка в клетках различных органов и тканей крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации и при введении уксуснокислого цинка. Установлено, что развитие хронической алкогольной интоксикации сопровождается постепенным снижением содержания цинка в гепатоцитах, клетках мозга и сыворотке крови крыс. Показано, что введение уксуснокислого цинка приводит не только к восполнению образованного дефицита, а и к накоплению этого элемента в исследуемых органах и тканях.

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация, уксуснокислый цинк, сыворотка крови, клетки печени и мозга

O. I. Kharchenko, L. I. Bogun, L. I. Ostapchenko

Zinc content in the cells of different rats organs following chronic alcoholic intoxication and administration of zinc acetate

The study was dedicated to investigation of zinc content in the cells of different rats' organs following chronic alcoholic intoxication and administration of zinc acetate. It was established that development of chronic alcoholic intoxication had been accompanied by the gradual decline of zinc content in liver, brain cells and blood serum of rats. It was shown that administration of zinc acetate resulted not only in compensation of zinc deficit, but also in accumulation of this element in the investigated organs and tissues.

Keywords: chronic alcoholic intoxication, zinc acetate, liver and brain cells, blood serum

Надійшла: 30.03.2012 р.

Контактна особа: Харченко Ольга Іванівна, кафедра біохімії, Київский національний університет імені Т. Г. Шевченка, вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01601. Тел.: (67) 952-16-89.

УДК 616-005.4: 615.217.34:547.756

Н. А. Цубанова

Вивчення гепатопротекторної дії спіроциклічного похідного оксіндолу за умов гострого тетрахлорметанового гепатиту

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: спіроциклічне похідне оксіндолу, гострий гепатит, гепатопротекторна дія

У патогенезі переважної більшості захворювань вагома роль відводиться некерованій активації процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) мембранних ліпідів. Формується неспецифічна реакція, яка носить назву «окисного стресу», вільнорадикальної патології або синдрому пероксидації [4, 10]. Наслідком цієї реакції є зростання рівня радикальних інтермедіатів кисню, а також продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), під впливом яких відбувається деградація макромолекулярних компонентів клітини та втрата функціональної дієспроможності органу в цілому. Поряд з активацією при патології процесів ПОЛ відбувається суттєве зниження дії фізіологічної антиоксидантної системи (АОС), яка бере участь у первинних фізико-хімічних процесах адаптації, і до якої входить ферментативна та неферментативна ланки. Зазначені молекулярні механізми патогенезу є типовими для розвитку більшості захворювань людини [4, 9, 11].

Натепер асортимент антиоксидантів, що застосовуються в медичній практиці, досить обмежений [3, 8]. До числа антиоксидантів синтетичного походження належить похідне емоксипіну – мексидол [3], дія якого реалізується завдяки гальмуванню процесів ВРО та відновленню пулу природних компонентів АОС.

Пошук та створення нових препаратів із вираженою антиоксидантною дією та низькою токсичністю є актуальним питанням сучасної медицини та фармації. Перспективною в цьому аспекті можна вважати нову сполуку – 4,3'-спіро [(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано [3,2-c]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол] (у подальшому сполука 77), що була синтезована вченими НФаУ (Редькін Р. Г., проф. Шемчук Л. А.) та, згідно з результатами дослідження, має значну антигіпоксантну активність [6] та низьку токсичність [7].

Мета дослідження – вивчення антиоксидантної та антицитолітичної активності спіроциклічного похідного оксіндолу на тлі гострого тетрахлорметанового гепатиту в щурів.

Матеріали та методи. Для підтвердження антиоксидантних та антицитолітичних властивостей сполуки 77 було обрано модель гострого тетрахлорметанового гепатиту в щурів-самців.

Гострий тетрахлорметановий гепатит у щурів масою 190–230 г викликали шляхом дводенного внутрішньошлункового введення 50 % масляного розчину тетрахлорметану в дозі 0,8 мл/100 г маси тіла [1] один раз на добу. Сполуку 77 у дозі 5 мг/кг, що чинить найбільший антигіпоксантний ефект [6], уводили в шлунок у лікувальному режимі протягом 3 діб (2 доби на тлі введення тетрахлорметану, 1 доба після моделювання гепатиту). Препарат порівняння мексидол (антигіпоксант, антиоксидант) виробництва ВАТ «Мир-фарм», Росія, уводили щурам у дозі 100 мг/кг за аналогічною схемою. Ефективність застосування мексидолу на тлі гепатитів доведена в доклінічних та клінічних фармакологічних дослідженнях [5]. Препарат порівняння дарсіл (гепатопротектор) виробництва ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна, уводили в дозі 6,3 мг/кг за силімарином у тому самому режимі. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість води.

© Н. А. Цубанова, 2012

При моделюванні патології печінки через 24 год після останнього введення гепатотоксину й досліджуваних препаратів тварин наркотизували 1 % розчином барбамілу, який не впливає на процес жовчоутворення, оперували та збирали секретовану жовч годинними порціями протягом 3 год [1]. Потім декапітацією щурів виводили з експерименту, збирали кров, робили резекцію печінки для визначення вагового коефіцієнта печінки та приготування гомогенату з метою проведення біохімічного аналізу. Вплив препаратів на функціональний стан печінки при її ураженні оцінювали за біохімічними показниками, які досліджували в тканині печінки, жовчі, сироватці крові. Критерієм інтенсивності процесів ПОЛ і стану АОС був рівень показників сироватки крові та гомогенату печінки: реактанти тіобарбітурової кислоти (ТБК – реактанти), дієнові кон'югати (ДК), відновлений глутатіон (ВГ) [2]. Зовнішньовидільну функцію печінки оцінювали за зміною інтенсивності жовчовиділення: враховували швидкість секреції жовчі за кожну годину спостереження в мг/хв/100 протягом 3 год, і визначали вміст холестерину й жовчних кислот (у мг%) [1, 2]. У сироватці крові за допомогою набору реактивів фірми «Lachema» визначали активність маркерного ферменту цитолізу аланінамінотрансферази (АлАТ) за Райтманом та Френзелем. Стан ліпідного обміну характеризували за рівнем у сироватці крові холестерину за реакцією Лібермана-Бурхардта.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika 6.0. з використанням критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення. Внутрішньошлункове введення тетрахлорметану, класичного мембранотропного токсину, викликає активацію ВРО в мембранах гепатоцитів.

Результати дослідження наведено в таблицях 1–3.

Гострий токсичний гепатит, викликаний тетрахлорметаном, супроводжувався виразним порушенням функцій печінки. Швидкість секреції жовчі в тварин з патологією зменшилася в 3,6 разу, концентрація холестерину жовчі в 2,1 разу, жовчних кислот у 1,8 разу, у той самий час уміст холестерину в сироватці крові збільшився в 1,8 разу (табл. 2). Гіперхолестеринемія на фоні зниження вмісту холестерину й жовчних кислот у жовчі, свідчать про розвиток синдрому холестазу. Крім того, підвищення вмісту холестерину в сироватці є компенсаторною реакцією при інтенсифікації процесів ПОЛ, тому що, при гіперхолестеринемії холестерин легше вбудовується в мембрани клітин і стабілізує їх.

Таблиця 1

Вплив спіроциклічного похідного оксіндолу (сполуки 77) та препаратів порівняння на масовий коефіцієнт печінки та активність аланінамінотрансферази при гострому тетрахлорметановому гепатиті в щурів, (n = 8)

Умови досліду	Масовий коефіцієнт печінки, %	АлАТ у гомогенаті печінки, мккат/л	АлАТ сироватки крові, мккат/л
Інтактний контроль	2,71±0,02	1,07±0,02	0,79±0,02
Контрольна патологія	3,67±0,08*	2,90±0,04*	2,19±0,05*
Сполука 77, 5 мг/кг	3,01±0,03* # $	1,72±0,04* # $ ^	1,38±0,02* # ^^
Мексидол, 100 мг/кг	3,20±0,03* #	2,09±0,03* # ^^	1,32±0,02* #
Дарсіл, 6,3 мг/кг	2,95±0,04** #	2,31±0,03* #	1,60±0,04* #

*Примітка. 1) * P < 0,001, ** P < 0,01 – достовірні відмінності з показниками групи інтактного контролю;*
2) # P < 0,001 достовірні відмінності з показниками контрольної патології;
3) $ P < 0,001 достовірні відмінності з показниками групи мексидолу;
4) ^ P < 0,001, ^^ P < 0,01 достовірні відмінності з показниками групи дарсілу.

Таблиця 2

Вплив спіроциклічного похідного оксіндолу (сполуки 77) та препаратів порівняння на функціональні та біохімічні показники печінки при гострому тетрахлорметановому гепатиті в щурів, (n = 8)

Умови досліду	Швидкість секреції жовчі, мг/хв/100	Холестерин сироватки крові, ммоль/л	Холестерин жовчі, мг/%	Жовчні кислоти, мг/%
Інтактний контроль	4,79±0,09	1,50±0,06	29,50±0,91	825,0±13,5
Контрольна патологія	1,32±0,09 *	2,78±0,11*	13,70±0,37*	464,0±24,9*
Сполука 77, 5 мг/кг	2,97±0,09* # $	2,13±0,08* #	18,10±0,25* # ^	590,0±20,1* ## ^
Мексидол, 100 мг/кг	2,62±0,06* # ^	2,26±0,07* ##	17,50±0,35* #	562,0±23,0* ###
Дарсіл, 6,3 мг/кг	3,81±0,03* # ^	1,97±0,06* #	21,60±0,49* #	712,0±23,4** #

*Примітка. 1) * P < 0,001, ** P < 0,01 достовірні відмінності з показниками групи інтактного контролю; 2) # P < 0,001, ## P < 0,01, ### P < 0,05 достовірні відмінності з показниками контрольної патології; 3) $ P < 0,05 достовірні відмінності з мексидолом; 4) ^P < 0,01 достовірні відмінності з дарсілом.*

Таблиця 3

Вплив спіроциклічного похідного оксіндолу (сполуки 77) та препаратів порівняння на показники системи ПОЛ-АОС при гострому тетрахлорметановому гепатиті в щурів, (n = 8)

Показник	Умови експерименту				
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сполука 77, 5 мг/кг	Мексидол, 100 мг/кг	Дарсіл, 6,3 мг/кг
Гомогенат печінки					
ТБК-реактанти, мкмоль/г	80,30± 1,04	240,00± 5,81*	131,00± 4,68* # $ ^	160,00± 4,21* #	187,00± 6,37* # $
ДК, мкмоль/г	5,38± 0,31	10,4± 0,56*	6,24± 0,43# $$ ^^	7,74± 0,32* ##	7,69± 0,27* ##
ВГ, у. о.	115,00± 3,23	64,40± 3,37*	100,00 ± 1,75** # $ ^	83,90± 3,42* ##	83,30± 1,68*##
Сироватка крові					
ТБК-реактанти, мкмоль/л	1,12± 0,05	3,03± 0,06*	1,91± 0,06* # $ ^	2,29± 0,04* #	2,42± 0,06* #
ВГ, у. о.	65,90± 1,72	31,20± 1,67*	62,10± 2,66# ^^	55,40± 1,75* #	45,10± 2,09* ## $

*Примітка. 1) * P < 0,001, ** P < 0,01 достовірні відмінності з показниками групи інтактного контролю; 2) # P < 0,001, ## P < 0,01 достовірні відмінності з показниками контрольної патології; 3) $ P < 0,01; $$ P < 0,05 достовірні відмінності з мексидолом; 4) ^ P < 0,001, ^^ P < 0,05 достовірні відмінності з дарсілом.*

Гострий гепатит характеризувався вираженим синдромом цитолізу, концентрація АлАТ збільшилася в гомогенаті печінки в 2,7 разу, у сироватці крові – у 2,8 разу. Достовірне підвищення масового коефіцієнта печінки на 35 % свідчить про важку інтоксикацію та розвиток запального процесу в тканині органу під впливом тетрахлорметану (табл. 1).

Експериментальний гепатит супроводжувався активацією процесів ПОЛ, про що свідчить достовірне підвищення проміжних (ДК) і кінцевих (ТБК – активні речовини) продуктів окиснення ліпідів у 1,9 і 3 рази відносно показників інтактного контролю. У групі контрольної патології спостерігали також суттєве зниження активності системи

АОС, про що свідчить зменшення запасів ВГ у середньому в 2 рази в гомогенаті печінки та сироватці крові порівняно з інтактним контролем (табл. 3).

Уведення сполуки 77 сприяло нормалізації біохімічних і функціональних показників печінки. Вірогідно зменшилися прояви синдрому цитолізу (рівень АлАТ зменшився в 1,6–1,7 разу в сироватці крові та в гомогенаті печінки) та загального запального процесу (показника масового коефіцієнта печінки) (табл. 1). Також необхідно відзначити, що протизапальний та антицитолітичний ефект досліджуваної сполуки достовірно перевищує активність референс-препаратів.

На тлі введення сполуки 77 відбувається нормалізація процесів жовчоутворення, але за впливом на швидкість секреції жовчі, концентрацію жовчних кислот та холестерину жовчі, сполука 77, як і мексидол, вірогідно поступаються гепатопротектору дарсілу (табл. 2).

Сполука 77 виявляє виражену антиоксидантну активність, на що вказує достовірне зниження ДК (у 1,7 разу) і ТБК-активних речовин (у 1,8 разу) у печінці відносно групи контрольної патології, тоді як референс-препарати мексидол і дарсіл знижували процеси пероксидації зі значно меншою ефективністю (у середньому в 1,3–1,4 разу). Сполука 77 сприяла відновленню функції АОС, про що свідчить достовірне збільшення рівня ВГ у гомогенаті печінки на 56 %, у сироватці крові на 100 % відносно групи контрольної патології. Вплив мексидолу та дарсілу на відновлення пулу ВГ був вірогідно нижчим (табл. 3).

Установлено, що сполука 77 виявляє потужний антиоксидантний ефект, вищий за активність препаратів порівняння:

- пригнічує активність процесів ПОЛ, про що свідчить зменшення рівня ТБК-реактантів, ДК у середньому в 2 – 2,5 разу;
- відновлює функції антиоксидантної системи, що характеризується зростанням рівня ВГ (табл. 3).

Таким чином, на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту сполука 77 значно знижує активність процесів цитолізу та гіпертрофію печінки, нормалізує процеси жовчоутворення, виявляє виражений антиоксидантний ефект: знижує інтенсифікацію процесів ПОЛ, нормалізує активність системи АОС.

Висновки

Встановлено виражений гепатопротекторний ефект оригінального спіроциклічного похідного оксіндолу. У механізмі захисної дії нової сполуки на гепатоцити є значна антицитолітична активність та антиоксидантна дія, що значно перевищують дію препаратів порівняння мексидолу та дарсілу.

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації за редакцією О. В. Стефанова.– К.: Авіцена, 2001.– 528 с.
2. *Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. В 2-х томах / В. С. Камышников.– Минск: Беларусь, 2002.– 463 с.
3. Компендиум 2009 – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова.– К.: МОРИОН, 2009.– С. Л1575–1576.
4. *Меньшикова Е. Б.* Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З.– Новосибирск: АРТА, 2008.– 284 с.
5. *Фаращук Н. Ф.* Мексидол и гепатит: результаты в эксперименте и перспективы в клинике // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.– 2006.– Приложение № 1.– С. 2–7.
6. *Цубанова Н. А.* Скринінгові дослідження антигіпоксичної дії спіроциклічних 2-оксіндольних похідних 2-аміно-3-ціано-4н-пірану / Цубанова Н. А. // Клінічна фармація.– 2009.– Т. 13, № 2.– С. 62–64.
7. *Цубанова Н. А.* Дослідження церебропротекторної дії та гострої токсичності нової сполуки, спіроциклічного похідного оксіндолу / Цубанова Н. А., Штриголь С. Ю. // Укр. біофармацевтичний журнал.– 2010.– № 1 (6).– С. 36–41.
8. Alpha-tocopherol protects against oxidative stress in the fragile X knockout mouse: an experimental therapeutic approach for the Fmr1 deficiency / Diego-Otero Y, Romero-Zerbo Y, el Bekay R, Decara J. [et al.] // Neuropsychopharmacology.– 2009.– № 34 (4).– P. 1011–26.
9. *Patel VP.* Nuclear transport, oxidative stress, and neurodegeneration / Patel VP, Chu CT. // Int J Clin Exp Pathol.– 2011.– № 4 (3).– P. 215–29.

10. Oxidative stress mediates cardiac infarction aggravation induced by intermittent hypoxia / Ramond A., Godin-Ribuot D., Ribuot C. [et al.] // Fundam Clin Pharmacol.– 2011, December.– V. 4.– P. 136–40.
11. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease/ Valko M., Leibfritz D., Moncol J. [et al.] // International Journal of Biochemistry & Cell Biology.– 2007.– № 39 (1).– P. 44–84.

Н. А. Цубанова

Изучение гепатопротекторного действия спироциклического производного оксиндола в условиях острого тетрахлорметанового гепатита

Изучено влияние спироциклического производного оксиндола и препаратов сравнения мексидола и дарсила на процессы желчеобразования, активность цитолиза и свободнорадикальное окисление в условиях острого гепатита. Установлено выраженное антиоксидантное, антицитолитическое действие спироцикличеного производного оксиндола в дозе 5 мг/кг. Установлено, что гепатопротекторная активность нового соединения превышает активность препаратов сравнения мексидола и дарсила.

Ключевые слова: спироциклическое производное оксиндола, острый гепатит, гепатопротекторное действие

Tsubanova N. A.

Study of hepatoprotective effect on spirocyclic oxindolic derivate in the conditions of acute tetrachloromethane hepatitis

It has been the studied influence of the spirocyclic oxindolic derivate and preparations of comparison mexidol and darsil on bicification processes, activity of cytolysis and free-radical oxidation in the conditions of acute hepatitis. It has been established expressed antioxidant, anticytolytic action of spirocyclic oxindolic derivate in dose 5 mg/kg. It is set that hepatoprotective effect of new substance exceeds activity of preparations of comparison such as mexidol and darsil.

Key words: spirocyclic oxindolic derivate, acute hepatitis, hepatoprotective effect

Надійшла: 27.02.2012 р.

Контактна особа: Цубанова Наталя Анатоліївна, канд. фарм. наук, доцент кафедри технології та безпеки ліків, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету, пл. Повстання,17, м. Харків, 61001. Тел.: (50) 538-14-45.
E-mail: tsubanova@rambler.ru

УДК 543.42.062 : 547.458 : 577.127.4 : 615 : 01

А. В. Гудзенко, Т. В. Ковальчук

Пошук маркерів для стандартизації полікомпонентних фітозасобів з тонізуючою активністю

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

Ключові слова: речовини-маркери, багатокомпонентні рослинні суміші, стандартизація, ВЕРХ

У наші дні фальсифікація лікарських препаратів становить серйозну загрозу фармацевтичному ринку в усьому світі. Одним з ефективних способів запобігання появі фальсифікату на фармацевтичному ринку є наявність в арсеналі контролюючих лабораторій аналітичної нормативної документації на готові лікарські засоби, їхні напівпродукти, яка відповідає сучасним фармакопейним вимогам, і дозволяє достовірно оцінювати їхню якість. Тому розробка ефективних методик контролю якості лікарських засобів є одним з найактуальніших питань сучасної фармацевтичної хімії.

Найгостріше проблема фальсифікації представлена в сегменті багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження (БЛЗРП), тому що існуючі методики контролю якості даної групи препаратів досить рідко відповідають сучасним фармакопейним вимогам і не дозволяють проводити якісну та кількісну стандартизацію всіх компонентів даних препаратів.

Один з найперспективніших напрямів модернізації процесів аналізу БЛЗРП – застосування маркерних сполук або маркерів, тобто, речовин, присутність яких характерна тільки для певного виду рослинної сировини.

Розробка та впровадження у фармацевтичну практику методик аналізу БЛЗРП з використанням маркерних сполук має наукову та практичну цінність.

Суттєвий сегмент БЛЗРП, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України, складають лікарські засоби, що тонізують центральну нервову систему (ЦНС).

Дані лікарські засоби сприяють підвищенню адаптивних можливостей людини, що має велике значення за умов погіршення екологічної ситуації, посилення дії стресових чинників тощо. Вважають, що такі фармацевтичні препарати не викликають значних побічних ефектів, активують захисні сили організму, коригують тканинне дихання тощо. До даної групи рослинних препаратів відносять такі вітчизняні та зарубіжні лікарські засоби, як: краплі «Антифронт» (виробник «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.», Угорщина), сироп Імуно-Тон (ЗАТ «Артеріум», Україна), полікомпонентну настоянку «Вітастім» (ВАТ «Біолік», Україна) та багато інших [6, 7].

Мета дослідження – пошук речовин-маркерів для стандартизації найпоширеніших компонентів БЛЗРП з тонізуючою активністю.

Матеріали та методи. Аналіз українського ринку БЛЗРП з тонізуючою ЦНС активністю проводили з використанням електронної бази зареєстрованих в Україні лікарських засобів, що представлена на сайті Державного експертного центру МОЗ України [6].

Об'єктами дослідження були настоянки коренів ехінацеї пурпурової та трави звіробою звичайного, рідкий екстракт елеутерококу колючого, водно-спиртові екстракти (60 % спирт) листя меліси лікарської, листя чаю зеленого, коренів солодки голої, коренів імбиру, коренів куркуми та багатокомпонентні препарати: краплі «Антифронт» (виробник «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.», Угорщина) і сироп Імуно-Тон (ЗАТ «Артеріум», Україна).

Аналіз компонентів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

© Колектив авторів, 2012

Об'єкти дослідження були проаналізовані в наступних умовах: колонка C18 X-Terra, розміром 250 мм × 4,6 мм, розмір часток 5 мкм; рухома фаза: 0–1 хв: ізократичне елюювання 100 % сумішшю ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (5 : 95) (об/об); 1–26 хв: градієнтне елюювання від 100 % до 70 % сумішшю ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (5 : 95) (об/об) та від 0 % до 30 % сумішшю ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); градієнтне елюювання від 70 % до 20 % сумішшю ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (5 : 95) (об/об) та від 30 % до 80 % сумішшю ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 30–35 хв: ізократичне елюювання 20 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (5 : 95) (об/об) та 80 % суміші ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (90 : 10) (об/об); 35–51 хв: ізократичне елюювання 100 % сумішшю ацетонітрил – 5 % розчин ортофосфорної кислоти (5 : 95) (об/об); температура колонки 35 °С; швидкість потоку рухомої фази 1 мл / хв.; об'єм інжектування 5 мкл; довжини хвилі детектування: 330 нм для аналізу розмаринової та цикорієвої кислот; 210 нм для аналізу елеутерозидів Е та В; 355 нм для аналізу гіперозиду; 270 нм для аналізу кофеїну; 251 нм для аналізу гліциризинової кислоти; 205 нм для аналізу гінгеролу-6; 420 нм для аналізу куркуміну.

Результати та їх обговорення. Як уже зазначалось раніше, одним з перспективних напрямів подальшого вдосконалення процедури стандартизації багатокомпонентних фітозасобів на кожному з етапів їхнього виробництва є використання так званих маркерних сполук, або маркерів – речовин, присутність яких характерна лише для окремої лікарської сировини.

Використання даного підходу до оцінки якості БЛЗРП викликає необхідність створення методології для обґрунтування критеріїв стандартизації та оцінки якості багатокомпонентних рослинних сумішей з урахування їхньої специфіки. Виходячи з цього, виникає необхідність у розробці методик ідентифікації та визначення маркерів у рослинній сировині, рослинних сумішах та готових багатокомпонентних лікарських засобах рослинного походження за допомогою селективних (головним чином, хроматографічних) методів аналізу, які могли б використовуватися на етапах розробки, контролю виробництва та оцінки готових препаратів.

Головними етапами впровадження цієї методології є:

– пошук серед БАР рослин-маркерів, які, можливо, будуть різними в залежності від складу рослинної суміші, що аналізується;
– розробка відповідних методик визначення маркерів за допомогою сучасних методів аналізу (використання високо селективних методів аналізу – ВЕРХ, газоворідинної хроматографії (ГРХ) тощо дозволяє значно підвищити специфічність аналітичних досліджень, і в процесі проведення одного аналізу визначати як якісний, так і кількісний склад рослинних сумішей);
– вивчення впливу присутності БАР інших рослин, що входять до складу рослинних сумішей, на можливість достовірного визначення зазначених маркерів;
– дослідження вмісту маркерів у рослинній сировині в залежності від різних факторів (регіон зростання, фаза вегетації, рік зберігання сировини тощо);
– розробка та створення нових підходів до технології виділення визначених маркерів із рослинної сировини та методик оцінки їхньої якості.

Ураховуючи зазначене, даний напрям створення сучасних методик аналізу існуючих та потенційних БЛЗРП є актуальним та відповідає світовим тенденціям фармацевтичної хімії та фармакогнозії.

Необхідно детально розглянути й характеристики, яким повинні відповідати речовини, що можуть бути використані як маркери для аналізу БЛЗРП.

Зазначені речовини повинні відповідати певним вимогам, а саме:

1) вибір речовин-маркерів має бути зумовлений складом і лікарською формою БЛЗРП;

2) наявність і кількісний уміст речовин-маркерів у конкретній лікарській рослинній сировині мають бути індивідуальними і суттєво не змінюватися в процесі зберігання;
3) можливість проведення якісного та кількісного визначення речовин-маркерів одним з фармакопейних методів аналізу;
4) речовини-маркери повинні бути присутні як у вихідній лікарській рослинній сировині, так і в готовому фітопрепараті;
5) речовини-маркери повинні бути доступні для придбання через систему спеціалізованих хімічних каталогів (Fluka, Aldrich, Merck, Sigma тощо) або, якщо це неможливо, повинні існувати відтворювані методики їхнього синтезу або виділення.

Отже, на нашу думку, можна дати таке визначення речовин-маркерів, що використовуються для стандартизації БЛЗРП: «Речовини-маркери для стандартизації багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження» – хімічні сполуки (у тому числі й біологічно активні), наявність та вміст яких у певному виді лікарської рослинної сировини є індивідуальними, суттєво не змінюються при зберіганні, а їхня кількісна та якісна оцінка в рослинних матрицях можлива з використанням фармакопейних методів.

Ураховуючи можливість використання речовин-маркерів для розробки нових методологічних підходів до стандартизації БЛЗРП, представляло безсумнівний інтерес провести пошук маркерів для компонентів, що найчастіше входять до складу БЛЗРП з тонізуючою ЦНС активністю та присутні на фармацевтичному ринку України.

Проведений аналіз БЛЗРП з тонізуючими властивостями, зареєстрованих в Україні [6], показав, що найчастіше до складу цієї групи препаратів входять наступні 16 рослинних компонентів: солодка гола, шипшина корична, ехінацея пурпурова, аїр звичайний, м'ята перцева, оман високий, елеутерокок, деревій звичайний, полин гіркий, дягель лікарський, женьшень, перстач прямостоячий, імбир, кульбаба лікарська, куркума, коричник цейлонський та кріп пахучий.

На рисунку 1 представлені дані щодо частоти використання цих рослинних компонентів у зареєстрованих на фармацевтичному ринку України БЛЗРП з тонізуючими властивостями.

Як свідчать дані, наведені на рисунку 1, найчастіше вживаними компонентами даного класу препаратів є солодка гола, шипшина корична, ехінацея пурпурова, аїр звичайний, м'ята перцева й елеутерокок, які входять до складу кожного третього БЛЗРП даної фармакотерапевтичної групи.

Базуючись на результатах власних досліджень і проведеного огляду літературних джерел, нами були визначені можливі маркери для 19 рослинних компонентів, що найчастіше входять до складу БЛЗРП з тонізуючою активністю. У таблиці наведено визначені маркери, а також методи аналізу, за допомогою яких можлива якісна та кількісна стандартизація зазначених рослинних компонентів у полікомпонентних

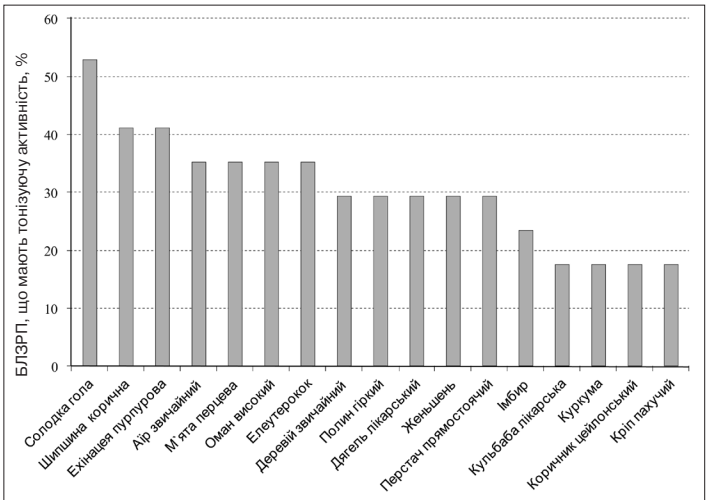

Рис. 1. Частота використання рослинних компонентів у складі БЛЗРП з тонізуючою ЦНС активністю, що зареєстровані в Україні.

фітопрепаратах. Слід враховувати, що залежно від складу БЛЗРП вказані методичні підходи можуть бути модифіковані.

Зокрема, згідно з даними таблиці, у попередніх дослідженнях нами було визначено маркер для стандартизації ехінацеї пурпурової в БЛЗРП. Цим маркером може бути фенілпропаноїд – цикорієва кислота. Для визначення можливості стандартизації ехінацеї пурпурової в рослинних сумішах були використані наступні препарати: сироп «Імуно-Тон» (ЗАТ «Артеріум»), складна настойка «Ладостим» (ВАТ «Біолік») та складна настойка «Вітастим» (ВАТ «Біолік»). У результаті проведених досліджень з використанням методу ВЕРХ доведено можливість стандартизувати ехінацею в присутності 11 рослинних компонентів [5].

Маркерами трави деревію звичайного можуть бути флавонові аглікони – лютеолін і апігенін та терпеноїди – борнеол і 1,8-цинеол. Зокрема, з використанням методів ВЕРХ та ГРХ розроблені хроматографічні методики, що дозволяють стандартизувати траву деревію в присутності 10 та 5 рослинних компонентів відповідно (таблиця) [1, 3, 4].

Маркером солодки голої може бути гліциризинова кислота, зокрема, у наших дослідженнях показана можливість якісної та кількісної стандартизації коренів солодки в присутності БАР 8 рослинних компонентів [2].

Маркером кульбаби лікарської може виступати цикорієва кислота, показана можливість стандартизації всіх частин кульбаби в присутності БАР 5 лікарських рослинних компонентів [8].

Маркерами дягеля лікарського можуть бути використані наступні БАР: архангелін, силімін та α-пінен; хмеля звичайного – хумулон, лупулон та ксантохумол; аралії манжурської – олеонолова кислота (після гідролізу); аїру звичайного – β-азарон; куркуми довгої – куркумін; імбирю – гінгероли (6,8 та 10); елеутерококу – елеутерозиди В та Е; родіоли рожевої – розавін; шипшини коричної – ізокверцитрин та кверцитрин; лимонника китайського – схізандрин; м'яти перцевої – ментол; звіробою звичайного – гіперицин та гіперозид; перстачу прямостоячого – катехін; полину гіркого – β-туйон і абсентин та женьшеню – панаксозиди.

Для підтвердження можливості використання зазначених вище маркерів для стандартизації компонентів рослинних сумішей як моделі нами були обрані наступні БЛЗРП з тонізуючою активністю: сироп «Імуно-Тон» виробництва ЗАТ «Артеріум» та краплі «Антифронт» виробництва «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.» (Угорщина).

До складу сиропу «Імуно-Тон» входить настойки з коренів та кореневищ ехінацеї пурпурової, рідкий екстракт елеутерококу та настойка трави звіробою звичайного.

З використанням методу ВЕРХ нами було розроблено хроматографічну методику, за якою було проаналізовано водно-спиртові екстракти коренів елеутерококу, коренів ехінацеї пурпурової та трави звіробою звичайного порівняно з достовірними зразками елеутерозидів Е і В, цикорієвої кислоти та гіперозиду.

На рисунку 2 представлені хроматограми настойки коренів і кореневищ ехінацеї пурпурової (А) та препарату «Імуно-Тон» (Б). Детектування при аналізі даних розчинів проводилося за довжини хвилі 330 нм, що відповідає максимуму поглинання цикорієвої кислоти.

Як можна бачити з рисунку 2, в екстракті ехінацеї та в досліджуваному препараті ідентикований маркер ехінацеї пурпурової – цикорієва кислота, час виходу якої в зазначених умовах складає близько 20 хв.

На рисунках 3–4 представлені хроматограми рідкого екстракту коренів елеутерококу (рис. 3 А), настойки трави звіробою звичайного (рис. 4 А) та хроматограми препарату «Імуно-Тон» (3 Б (довжина хвилі детектування 210 нм), 4 Б (довжина хвилі детектування 355 нм)).

Як можна бачити з рисунку 3, як в екстракті елеутерококу (А), так і в препараті «Імуно-Тон» (Б) ідентифіковані маркери елеутерококу – елеутерозиди В та Е, час виходу яких складає відповідно 10,3 та 14,8 хв.

Час виходу флавоноїду гіперозиду, який у даному препараті може бути

Таблиця

Можливі маркери компонентів БЛЗРП з тонізуючими ЦНС властивостями та методики їхнього визначення в рослинній сировині

№	Рослинний компонент	Можливий маркер рослини в БЛЗРП	Метод аналізу	Спосіб екстракції
1	Солодка гола корені (*Glycyrrhiza glabra L.*)	Гліциризинова кислота	ТШХ (якісний) [22]	96 % етанол
			ВЕРХ (кількісний) [2]	70 % етанол
2	Ехінацея пурпурова (*Echinacea purpurea L.*)	Цикорієва кислота	ТШХ (якісний) [22]	70 % етанол
			ВЕРХ (кількісний) [5]	70 % етанол
3	Кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale Web.*)	Цикорієва кислота	ТШХ (якісний) [22]	70 % етанол
			ВЕРХ (кількісний) [8]	70 % етанол
4	Дягель лікарський (*Angelica archangelica L.*)	Архангелін, силімін	ТШХ (якісний) [9]	70 % етанол
		α-пінен	ГРХ (кількісний) [24]	Відгонка з водяною парою, хлороформ
5	Хміль звичайний (*Humulus lupulus L.*)	Хумулон, лупулон	ТШХ (якісний) [22]	діетиловий ефір
		Ксантохумол	ВЕРХ (кількісний) [10]	70 % етанол
6	Аралія манжурська (*Aralia mandshurica Rupr. et Maxim.*)	Олеанолова кислота	ТШХ (якісний) [20]	80 % метанол, потім: сірчано-кислий гідроліз
			ВЕРХ (кількісний) [17]	
7	Аїр звичайний (*Acorus calamus L.*)	β-азарон	ТШХ (якісний) [19]	Метанол
			ГРХ (кількісний) [27]	
8	Куркума (*Curcuma longa L.*)	Куркумін	ТШХ (якісний) [22]	Метанол
			ВЕРХ (кількісний) [18]	
9	Імбир (*Zingiber officinale L.*)	Гінгероли (6, 8,10)	ТШХ (якісний) [28]	Метанол
		Гінгероли 6,8	ВЕРХ (кількісний) [28]	Метанол
10	Елеутерокок (*Eleutherococcus senticosus Maxim.*)	Елеутерозид В, елеутерозид Е	ТШХ (якісний) [22]	50 % етанол
			ВЕРХ (кількісний) [13]	
11	Деревій звичайний (*Achillea millefolium L.*)	Апігенін, лютеолін	ВЕРХ (кількісний) [3]	50 % етанол
		Борнеол, 1,8-цінеол	ТШХ (якісний) [22]	Відгонка з водяною парою, хлороформ
			ГРХ (кількісний) [1]	
12	Родіола рожева (*Rhodiola rosea L.*)	Розавін	ТШХ (якісний) [15]	Метанол
			ВЕРХ (кількісний) [14]	Метанол
13	Шипшина корична (*Rosa cinnamomea L.*)	Ізокверцитрин, кверцитрин	ТШХ (якісний) [22]	70 % етанол
			ВЕРХ (кількісний) [25]	
14	Лимонник китайский (*Schizandra chinensis (Turcz.) Baill.*)	Схізандрин	ТШХ (якісний) [23]	Етанол
			ВЕРХ (кількісний) [16]	
15	М'ята перцева (*Mentha piperita L.*)	Ментол	ТШХ (якісний) [22]	Відгонка з водяною парою,метанол
			ГРХ (кількісний) [13]	
16	Звіробій звичайний (*Hypericum perforatum L.*)	Гіперицин	ТШХ (якісний) [22]	70 % етанол
			ВЕРХ (кількісний) [21]	
		Гіперозид	ТШХ (якісний) [22]	
			ВЕРХ (кількісний) [13]	
17	Перстач прямостоячий (*Potentilla erecta L.)*	Катехін	ТШХ (якісний) [13]	Вода
			ВЕРХ (кількісний) [13]	
18	Полин гіркий (*Artemisia Absinthium L.*)	Абсінтин	ТШХ (якісний) [22]	Метанол
		β-Туйон		Відгонка з водяною парою
		β-Туйон	ГРХ (кількісний) [12]	Відгонка з водяною парою
19	Женьшень (*Panax Ginseng C. A. May*)	Панаксозиди	ТШХ (якісний) [22]	96 % етанол
			ВЕРХ (кількісний) [11]	96 % етанол

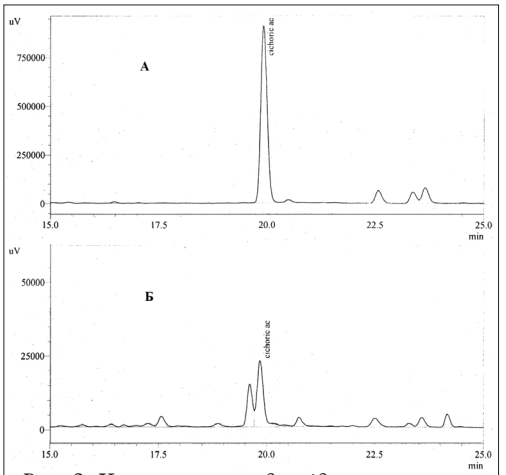

Рис. 2. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 330 нм):
А – настойки ехінацеї пурпурової;
Б – препарату «Імуно-Тон».

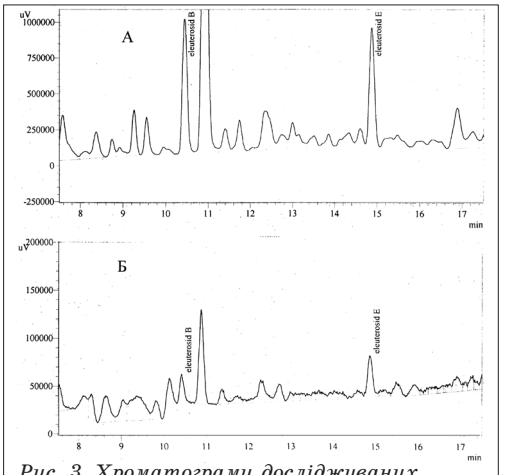

Рис. 3. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 210 нм):
А – екстракту елеутерококу;
Б – препарату «Імуно-Тон».

маркером звіробою, тому що він не міститься ні в сировині елеутерококу, ні в сировині ехінацеї, складає 17,2 хв. При цьому зазначений пік присутній як на хроматограмі настойки трави звіробою звичайного (рис. 4 А), так і на хроматограмі сиропу «Імуно-Тон» (рис. 4 Б).

До складу крапель «Антифронт» входять водно-спиртові витяги з листя меліси лікарської, коренів імбиру, коренів солодки голої, листя чаю зеленого та коренів куркуми.

За розробленою хроматографічною методикою було проаналізовано препарат «Антифронт», а також водно-спиртові екстракти листя меліси лікарської, коренів імбиру, коренів солодки голої, листя чаю зеленого та коренів куркуми довгої порівняно з розчинами достовірних зразків розмаринової кислоти, кофеїну, куркуміну, гліциризинової кислоти та гінгеролу-6.

На рисунку 5 представлені хроматограми екстракту меліси лікарської (А) та препарату «Антифронт» (Б) (довжина хвилі детектування 330 нм).

Як можна бачити з рисунку 5, як в екстракті меліси, так і в досліджуваному препараті ідентифіковано маркер меліси – розмаринову кислоту, час виходу якої за умов визначення складає близько 21 хв.

Маркером сировини зеленого чаю може бути біологічно активна речови-

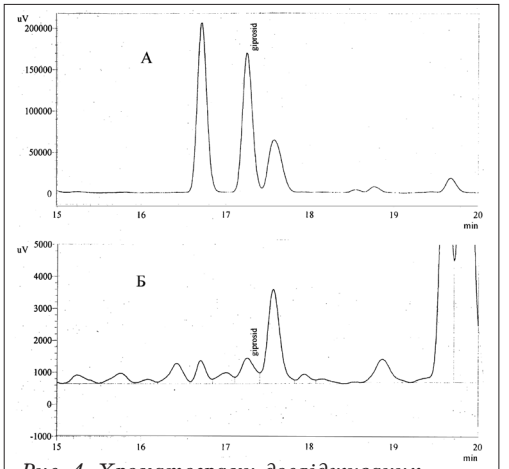

Рис. 4. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 355 нм):
А – настойки трави звіробою звичайного;
Б – препарату «Імуно-Тон».

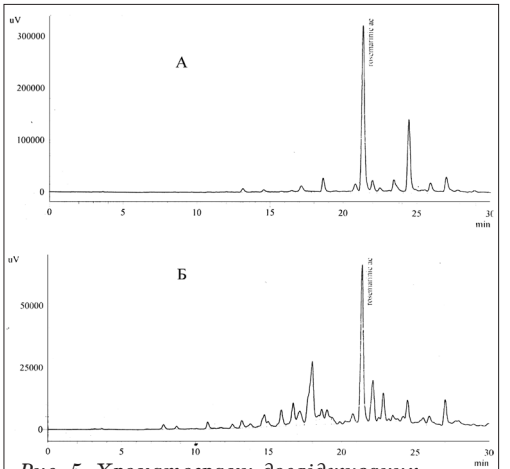

Рис. 5. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 330 нм):
А – екстракту меліси лікарської;
Б – препарату «Антифронт».

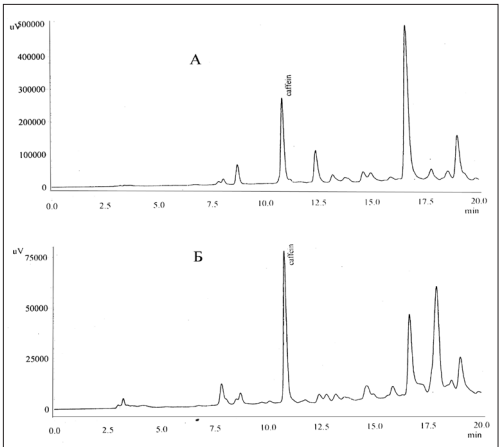

Рис. 6. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 270 нм):
А – екстракту чаю зеленого;
Б – препарату «Антифронт».

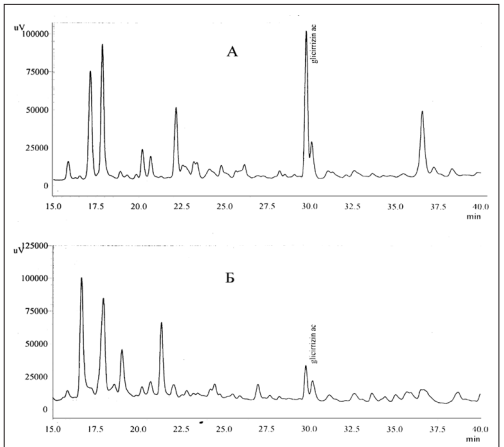

Рис. 7. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 251 нм):
А – екстракту коренів солодки голої;
Б – препарату «Антифронт».

на кофеїн, що в даній суміші присутній лише в чаї. На рисунку 6 представлені хроматограми екстракту зеленого чаю (А) та препарату «Антифронт» (Б). В обох випадках на хроматограмах присутній пік кофеїну, час виходу якого за умов визначення складає близько 11 хв (довжина хвилі детектування 270 нм).

На рисунках 7–9 представлені хроматограми екстрактів коренів солодки голої (рис. 7 А), імбиру (рис. 8 А), куркуми (рис. 8 А) та хроматограми препарату «Антифронт» (7 Б (довжина хвилі детектування 251 нм), 8 Б (довжина хвилі детектування 205 нм), 9 Б (довжина хвилі детектування 420 нм).

Як можна бачити з рисунка 7, як в екстракті коренів солодки (А), так і в препараті «Антифронт» (Б) ідентифіковано маркер солодки – гліцириризинову кислоту, час виходу якої за умов визначення складає близько 29 хв.

Час виходу гінгеролу-6, який у даному препараті може бути маркером коренів імбиру, складає близько 30 хв. Зазначений пік присутній як на хроматограмі екстракту коренів імбиру (рис. 8 А), так і на хроматограмі крапель «Антифронт» (рис. 8 Б).

В екстракті коренів куркуми і в препараті «Антифронт» ідентифіковано маркер куркуми – куркумін, час виходу якого в зазначених умовах складає близько 36 хв (рис. 9).

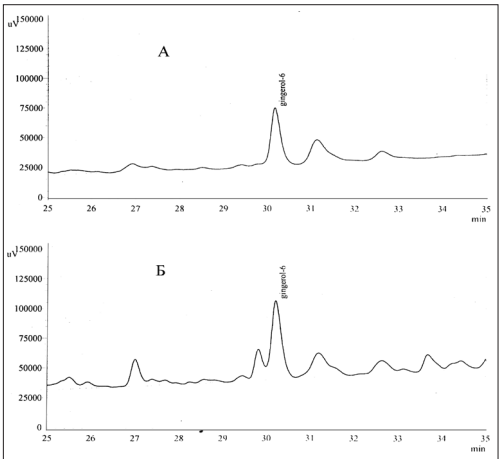

Рис. 8. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 205 нм):
А – екстракту коренів імбиру;
Б – препарату «Антифронт».

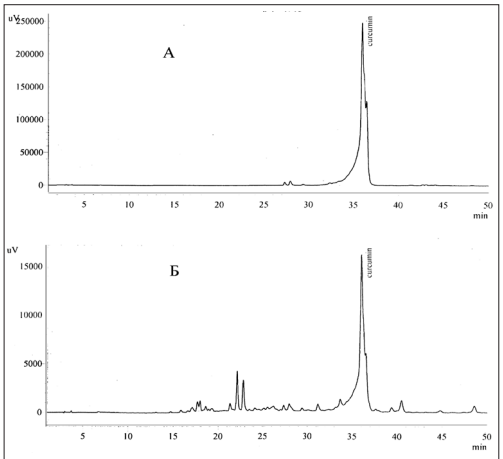

Рис. 9. Хроматограми досліджуваних розчинів (детектування 420 нм):
А – екстракту коренів куркуми;
Б – препарату «Антифронт».

Висновки

1. З метою приведення методик аналізу БЛЗРП з тонізуючою ЦНС активністю до сучасних фармакопейних вимог запропоновано методологію, що дає можливість якісної та кількісної стандартизації окремих компонентів фітопрепаратів.
2. Проведено аналіз найпоширеніших компонентів БЛЗРП з тонізуючою ЦНС активністю, що зареєстровані в Україні.
3. Визначено маркери, за допомогою яких можлива якісна та кількісна стандартизація 19 рослинних компонентів у БЛЗРП з використанням високоселективних фармакопейних методів аналізу.
4. На моделі сиропу «Імуно-Тон» показана можливість стандартизації всіх діючих рослинних компонентів препарату за визначеними маркерами: ехінацеї пурпурової – за наявністю та вмістом цикорієвої кислоти; елеутерококу – за наявністю та вмістом елеутерозидів Е та В; звіробою звичайного – за наявністю та вмістом гіперозиду.
5. На моделі крапель «Антифронт» показана можливість стандартизації всіх діючих рослинних компонентів препарату за визначеними маркерами: меліси лікарської – за наявністю та вмістом розмаринової кислоти; чаю зеленого – за наявністю та вмістом кофеїну; солодки голої – за наявністю та вмістом гліциризинової кислоти; імбиру – за наявністю та вмістом генгеролу 6; куркуми довгої – за наявністю та вмістом куркуміну.

1. *Гудзенко А. В.* Дослідження ліпофільних екстрактів трави деревію звичайного (*Achillea millefolium L.*) / Гудзенко А. В. // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2010.– № 6.– С. 62–68.
2. *Гудзенко А. В.* Розробка підходів до стандартизації коренів солодки голої (*Glicyrriza glabra L.*) у рослинних сумішах / Гудзенко А. В. // Фітотерапія, часопис.– 2011.– № 4.– С. 65–67.
3. *Гудзенко А. В.* Розробка підходів до якісного та кількісного визначення компонентів Трави деревію звичайного (*Achillea millefolium L.*) у багатокомпонентних рослинних сумішах / Гудзенко А. В. // Фармацевтичний журнал.– 2011.– № 1.– С. 79–84.
4. *Гудзенко А. В.* Дослідження препаратів та рослинних сумішей трави деревію звичайного (*Achillea millefolium L.*) / Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.– 2011.– Вип. XXIV, № 2.– С. 61–64.
5. *Гудзенко А. В.* Стандартизація ехінацеї пурпурової у багатокомпонентних рослинних сумішах / Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. // Фармацевтичний журнал.– 2009.– № 1.– С. 130–135.
6. Довідник лікарських засобів, зареєстрованих на Україні станом на 01.01.2011 // www.Pharmacenter.kiev.ua.
7. Компендиум 2009 – Лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Вікторова.– К: Морион, 2009.– 2224 с.
8. *Цуркан О. О.* Вивчення біологічно активних речовин надземної частини кульбаби лікарської та розробка підходів до стандартизації показників якості рослини у складних фіто композиціях / Цуркан О. О., Ковальчук Т. В., Гудзенко А. В. // Фармацевтичний журнал.– 2008.– № 2.– С. 123–129.
9. *Bhat Z.* Angelica archangelica Linn. An angel on earth for the treatment of diseases / Bhat Z., Kumar D., Shah M. // Int. J. Nutr. Pharm. Neurol. Dis.– 2011.– V. 1.– P. 36–50.
10. Characterization of prenylflavonoids and hop bitter acids in varios classes of Czech beers and hop extracts using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry / Ceslova L., Holcarek M., Drstickova J. [et al.] // J. Chrom. A.– 2009.– V. 1219.– P. 7249–7257.
11. Dionex Corporation. Rapid Analysis of Ginseng Using Accelerated Solvent Extraction and High Performance Liquid Chromatography; Application Note 192, LPN 1965. Sunnyvale, CA, 2007.
12. Determination of α-/β-thujone and related terpenes in Absinthe using solid phase extraction and gas chromatography / Emmert J., Sartor G., Sporer F., Gummersbach J. // Deutsche Lebensmittel-Rundschau.– 2004.– № 9.– P. 352–356.
13. European Pharmacopoeia. 4th ed.– Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2004.– 3416 p.
14. *Ganzera M.* Analysis of the Marker Compounds of Rhodiola rosea L. (Golden Root) by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography / Ganzera M., Yayla Y., Khan I. // Chem. Pharm. Bull.– 2001.– V. 49 (4).– P. 465–467.
15. Evaluation of biologically active compounds in roots and rhizomes of Rhodiola rosea L. cultivated in Lithuania / Kucinskaite A., Poblocka-Olech L., Krauze-Baranowska M. [et al.] // Medicina.– 2007.– V. 43 (6).– P. 487–494.
16. The Immuno-Regulatory Effects of Schisandra chinensis and Its Constituents on Human Monocytic Leukemia / Lin R., Mao Y., Leu S. [et al.] // Cells Molecules.– 2011.– V. 16.– P. 4836–4849.
17. Determination of oleanolic acid ursolic acid in Oldenlandia diffusa and substitute using high performance liquid chromatography / Liang Z., Jiang Z., Fong D. [et al.] // J. Food Drag Anal.– 2009.– V. 17.– P. 69–70.

18. *Nagappan K.* A liquid chromatography method for the simultaneous determination of curcumin and piperinin food products using diode array detector / Nagappan K., Meyyanthan S., Kannan R. // Asian J. Research Chem.– 2009.– V. 2 (2).– P. 115–118.
19. *Oprean R.* Comparison of GC-MS and TLC techniques for asarone isomers determination / Oprean R., Tamas M., Roman L. // J. Pharm. Biomed. Anal.– 1998.– V. 18.– P. 227–234.
20. Phitochemical and pharmacological research on some extracts obtained from Serpylli herba / Pavel M., Vostinaru O., Mogosan C. [et al.] // Farmacia.– 2011.– V. 59, № 1.– P. 77–84.
21. *Vattikuti U.* An overview on Hipericum performatum Linn / Vattikuti U., Ciddi V. // Nat. Prod. Rad.– 2005.– V. 4(5).– P. 368–381.
22. *Wagner H.* Plant drug analysis / Wagner H., Bladt S.– 2nd ed.– Berlin: Springer, 2001.– 384 p.
23. *Wang K.* Determination of the active ingredients in Chinese drug wuweizi (Schisandra chinensis) by TLC-densitometry / Wang K, Tong Y., Song W. // Yao Xue Xue Bao.– 1990.– V. 25 (1).– P. 49–53.
24. Bioactivity-guided fraction and GC/MS fingerprinting of Angelica sinensis and Angelica archangelica root components for antifungal and mosquito deterren activity / Wedge D., Klun J., Tabanga N. [et al.] // J. Agric. Food Chem.– 2009.– V. 57.– P. 464–470.
25. Phytochemical composition and in vitro pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina L.*) preparations / Wenziga E. M., Widowitza U., Kunertb O. [et al.] // Phytomedicine.– 2008.– V. 15.– P. 826–835.
26. Simultaneous analysis of purine alkaloids and catechins in Camelliasinensis, Camellia ptilophylla and Camellia assamica var. kucha by HPLC / Xiao R., Chuang X., Jie K. [et al.] // Food Chem.– 2007.– V. 100.– P. 1132–1136.
27. Development of fingerprints for quality control of Acorus species by gas chromatography/mass spectrometry / Yu S.M., Kim E.K., Lee J.H. [et al.] // Bull. Korean Chem. Soc.– 2011.– V. 32.– P. 1547–1553.
28. Zingiber officinale: master document // Natural remedies, Bangalor.– 2010.– 31 p.

А. В. Гудзенко, А. А. Цуркан, Т. В.Ковальчук

Поиск маркеров для стандартизации поликомпонентных фитопрепаратов с тонизирующей активностью

С целью приведения методик анализа многокомпонентных лекарственных средств растительного происхождения (МЛСРП) с тонизирующей активностью к современным фармакопейным требованиям с применением маркерных соединений, предложена методология для качественной и количественной стандартизации отдельных компонентов сложных фитопрепаратов. Предложены маркерные соединения, позволяющие проводить качественную и количественную стандартизацию 19 наиболее часто используемых растительных компонентов МЛСРП с тонизирующей активностью. Разработана хроматографическая методика, с использованием которой по найденным маркерам возможна качественная и количественная стандартизация всех действующих растительных компонентов следующих лекарственных средств: Сиропа «Имуно-Тон» (изготовитель корпорация ЗАТ «Артериум») и капель «Антифронт» (изготовитель «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.», Венгрия).

Ключевые слова: вещества-маркеры, многокомпонентные лекарственные средства растительного происхождения с тонизирующей активностью, стандартизация, ВЭЖХ

Gudzenko A. V., Tsurkan O. O., Kovalchuk T. V.

Search of markers for standardization of multicomponent plant medicines with tonic activity

In order to bring the techniques for analyzing multicomponent plant medicines with tonic activity for modern pharmacopoeia requirements, with the application of marker compounds proposed methodology for qualitative and quantitative standardization of components of complex plant medicines. Proposed marker compounds for standardization of the 19 components of complex plant medicines with tonic activity. Developed a chromatographic technique with identification of the markers, may it possible qualitative and quantitative standardization of all existing plant components following medicines: syrup «Imuno-Thon» (produced corporation «Arterium») and drops «Antifront» (produced «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.», Hungary).

Key words: substance-marker, multicomponent plant medicines with tonic activity, standardization, HPLC

Надійшла: 19.03.2012 р.

Контактна особа: Гудзенко Андрій Вікторович, наук. співроб., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680. Тел.: (44) 277-41-18.

УДК 615.014.2 (477.51)

О. П. Шматенко[1], В. О. Тарасенко[1], О. В. Трохимчук[1],
А. О. Дроздова[2], В. В. Шматенко[1]

Обґрунтування методологічних підходів та систематизація номенклатури лікарських засобів для лікування запальних захворювань пародонта

[1]Українська військово-медична академія, м. Київ
[2]Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ

Ключові слова: тканини пародонта, лікарські засоби, регенерація

Запально-дистрофічні захворювання пародонта займають друге місце за своєю розповсюдженістю серед стоматологічних захворювань після карієсу зубів. Це пов'язано з особливістю перебігу патологічного процесу та станом порожнини рота з урахуванням належної якості життя (наприклад, існує щільний взаємозв'язок між захворюваннями серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту (ШКТ) і станом порожнини рота) [1, 4]. Від шляху введення та способу застосування ЛЗ залежить можливість доступу його в осередок запалення в пародонті та ефективність лікування.

Можливість і необхідність лікарського впливу безпосередньо на пародонт, тверді тканини зуба або введення препарату в канали зуба поряд із загальносистемними підходами, – усе це зумовлює ретельний науковий підхід щодо лікування та профілактики запально-дистрофічних захворювань пародонта (ЗДЗП).

Мета дослідження – обґрунтування методологічних підходів та систематизація номенклатури лікарських засобів для лікування запальних захворювань пародонта.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження було обрано номенклатуру ЛЗ вітчизняного та світового фармацевтичного ринку для лікування ЗДЗП, структуру захворюваності на зазначену патологію.

Для досягнення поставленої мети використовували системно-оглядові методи дослідження.

Результати та їх обговорення. Авторами [4] запропоновано блок-схему лікувальних заходів при генералізованому пародонтиті (рис. 1.).

З рисунку 1 видно, що перший етап лікування ЗДЗП передбачає усунення патогенної дії мікробного фактора та ліквідацію запальних процесів у тканинах пародонта, що зумовлено мікробною агресією тканин пародонта та запальним процесом у цілому. Усе це загалом активує процеси остеокластичної резорбції альвеолярної кістки [3, 6].

Другий етап передбачає нормалізацію метаболічних процесів в альвеолярному відростку і кістковій системі в цілому, зниження активності резорбтивних процесів і часткове відновлення структури та функції тканин пародонта [6].

Наукові дослідження, проведені протягом тривалого часу, впевнено продемонстрували, що пригнічення запально-деструктивних процесів місцевими методами більш ефективне ніж застосування резеціюючих хірургічних підходів [2, 4]. Тому одним із вагомих моментів успішного проведення місцевої терапії на першому етапі є вибір методу доставки лікарської речовини (ЛР) у вогнище патології. Для лікування будь-якого захворювання пародонта традиційно застосовуються такі методи: аерозольні зрошення, інгаляції, промивання під тиском зі шприца, полоскання, ротові ванночки, аплікації та інстиляції в складі ясеневих пов'язок, уведення в пародонтальні кишені за допомогою турунд, електрофорез,

© Колектив авторів, 2012

Рис. 1. Блок-схема лікувальних заходів при ЗДЗП.

магнітофорез, ін'єкції. Вибір кожного з методів медикаментозного лікування обґрунтовується не тільки особливостями перебігу захворювання, станом хворого, але і фармакодинамікою та фармакокінетикою ЛЗ [3, 4].

Використання остеотропних препаратів на другому етапі реабілітаційних заходів дозволяє досягти ефективних результатів при лікуванні хворих із захворюваннями пародонта, зупинити прогресуюче зменшення альвеолярного гребня та стимулювати процеси репаративної регенерації [2].

До комплексу таких лікувальних заходів включають ЛЗ, які умовно можна розділити на три групи: препарати, що регулюють гомеостаз кальцію; препарати, що пригнічують процеси резорбції кісткової тканини – антирезорбенти; препарати, що стимулюють процеси остеогенезу. Однак призначення таких ЛЗ можливе після ретельної діагностики структурно-функціонального стану кісткової системи, визначення функціональних і біохімічних показників її метаболізму [3, 5].

Фаза корекції білково-мінерального обміну в кістковій тканині альвеолярного гребня полягає в стимулюванні репаративної регенерації. Для попередження остеопоротичних, остеодеструктивних та остеолітичних процесів у кістковій тканині на даному етапі реабілітаційних заходів доцільно використовувати препарати з вираженою антирезорбтивною дією – бісфосфонат Фосамакс (потенційний специфічний негормональний інгібітор резорбції кісткової тканини) та Остеохін (флавоноїд, ремодулятор кісткової тканини). Застосування цих препаратів протягом місяця призводить до гальмування остеокластичної резорбції.

Крім того, на даному етапі призначають препарати, що стимулюють остеогенез за рахунок активізації процесу диференціювання та проліферації клітин – попередників остеобластів, зокрема, препарати фтору (Натрію фторид, Оссин, Монофлюорофосфат, Кореберон) [1, 4].

Натепер фториди залишаються найефективнішими препаратами, що здатні стимулювати активність остеобластів та остеогенез. Основні механізми їхньої дії на кістку полягають в утворенні в кістковій тканині фтористих апатитів, стійких до остекластичної резорбції, та стимулюванні проліферації та відновленні кісткової тканини [5].

До інших остеотропних ЛЗ відносяться анаболічні стероїди (Метандростенолон, Ретаболіл); анаболічні нестероїдні препарати (Калію оротат); препарати замісної гормональної терапії в жінок (Тиболон, Фемостон); кальцитоніни (Міокальцик). Останні препарати тривало впливають на азотистий баланс, сприяють фіксації кальцію в кістковій тканині [2, 6].

У подальшому для корекції білково-мінерального обміну кісткової тканини призначають препарати кальцію (карбонат, глюконат та цитрат кальцію, Кальцемін, Кальцемін-адванс, Кальцемін Сільвер, Космол, Кальцій-D_3 Нікомед) [5]. Їхнє застосування сприяє встановленню позитивного кісткового балансу, зниженню інтенсивності обмінних процесів у кістковій тканині та попередженню вимивання кальцію з кістки.

Необхідно відмітити, що до регуляторів кальцій-фосфорного обміну також відноситься вітамін D_3. Активний метаболіт вітаміну D – кальцитріол, альфакальцидол регулює всмоктування в кишківнику кальцію, що потрапляє з їжею. Вони активують синтез кальцій-

© Колектив авторів, 2012

зв'язуючого білка – кальбіндинку [1, 3].

Незважаючи на те, що в теперішній час для лікування ЗДЗП запропоновано великий арсенал ЛЗ різного фармако-терапевтичного спрямування, пошук нових методів лікування, нових оригінальних препаратів та нових комбінацій лікарських субстанцій продовжується. Прикладом вищезазначеного є застосування природних речовин та вітамінних комплексів для профілактики та лікування різних форм уражень пародонта, таких як Белавіт, Бел Сол № 3, Вітадонт, КП–пласт–Фіто, КП–пласт–Віта, КП–пласт–Гемостатичний, КП–пласт–Антимікробний [4]. Відсотковий розподіл споживання хворими на ЗДЗП вищезазначених ЛЗ представлено на рисунку 2.

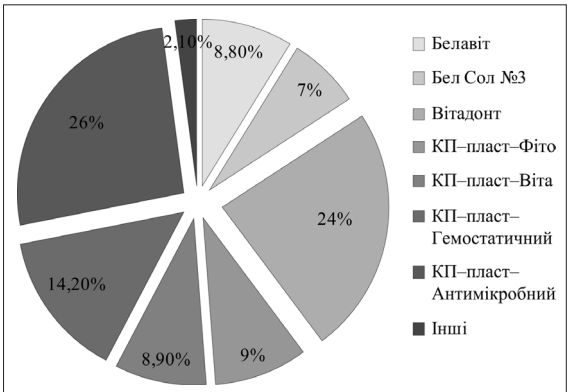

Рис. 2. Відсотковий розподіл споживання хворими на ЗДЗП лікарських засобів на основі природних речовин і вітамінних комплексів

Аналіз отриманих даних показав, що найбільшим попитом серед хворих на ЗДЗП користуються КП–пласт–Антимікробний (26 %) та Вітадонт (24 %).

Вітадонт – антибактеріальна пастапов'язка, що є вітамінізованим комплексом на основі восково-лецитинової композиції з бета-каротином, вітамінами С та Е. Вона має виражену протизапальну дію, сприяє швидкій регенерації слизової порожнини рота. Лецитин, що входить до складу пасти Вітадонт, сприяє засвоєнню вітамінів А та Е. Поряд з вітамінним комплексом до складу пасти входить бджолиний віск. При нанесенні пасти на тканини пародонта біологічно-активні речовини добре проникають у десну, у той час як токсини абсорбуються на воску. Віск також сприяє зниженню больових відчуттів, має антибактеріальну та антивірусну дії.

КП-пласт-антимікробний – пластини на основі природних полісахаридів, що містять у своєму складі метронідазол та хлоргексидин. Таке поєднання активних субстанцій є позитивним, так як вони діють на широкий спектр мікроорганізмів. Комбінація метронідазол/хлоргексидин ефективна стосовно анаеробних бактерій, що колонізують ротову порожнину [5, 6].

Вищезазначені пластини є ефективними лікувально-профілактичними засобами на основі речовин природного походження та синтетичних сполук при ЗДЗП. Застосування пластин є частиною комплексу терапевтичних заходів при ЗДЗП [3, 4].

Висновки

Розроблено схему лікувальних заходів ЗДЗП згідно з урахуванням перебігу всіх ланок патологічного процесу та зазначено методологічний підхід щодо вибору та застосування ЛЗ на кожному етапі лікування генералізованого пародонтиту.

Узагальнено та систематизовано номенклатуру ЛЗ вітчизняного ринку для комплексної терапії ЗДЗП.

Проведено аналіз попиту на ЛЗ на основі природних речовин та вітамінних комплексів для профілактики та лікування різних форм уражень пародонта.

1. *Грудянов А. И.* Зависимость антимикробной активности препарата «Метрогил-дента» от длительности локального введения при воспалительных поражениях пародонта / А. И. Грудянов, Н. А. Дмитриева, В. В. Овчинникова // Пародонтология.– 2001.– № 1 – 2.– С. 32–37.
2. *Косенко К. Н.* Микробные ассоциации пародонтального кармана у больных генерализованным параодонтитом / К. Н. Косенко, Ю. Г. Чумакова, Э. А. Городенка // Вісник стоматології.– 2000.– № 3.– С. 10–13.
3. Стан здоров'я населення України та результати діяльності галузі охорони здоров'я 2002 року.– К., 2003.– 48 с.

4. *Тарасенко В. О.* Сучасна медикаментозна терапія для лікування запальних захворювань пародонту / В. О. Тарасенко, О. Я. Коритнюк // Фармацевтична технологія. Історія розвитку та погляд у майбутнє: Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 85-річчю з дня народження ректора Харківського фармацевтичного інституту д-ра фармац. наук. проф. Сала Дмитра Павловича, 26 лист. 2008 р.– Х. : Видавництво НФаУ, 2008.– С. 265–271.
5. *Maisch T.* Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future / T. Maisch // Lasers In Medical Science.– 2007.– V. 22, № 2.– P. 83–91.
6. *McClanahan S. B*. Natural modifiers of the inflammatory process in the human dental pulp / S. B. Mc Clanahan, D. W. Turner, E. J. Kaminski [et al.] // Journal Of Endodontics.– 2006.– V. 17, № 12.– P. 589–593.

А. П. Шматенко, В. А. Тарасенко, А. В. Трохимчук, А. О. Дроздова, В. В. Шматенко

Обоснование методологических подходов и систематизация номенклатуры лекарственных препаратов для лечения воспалительных заболеваний пародонта

Исходя из медико-биологических требований к местной медикаментозной терапии воспалительных заболеваний пародонта, обобщена и систематизирована номеклатура отечественного фармацевтического рынка лекарственных препаратов. Предложена схема лечебных мероприятий при генерализованном пародонтите.

Ключевые слова: ткани пародонта, лекарственные средства, регенерация

A. P. Shmatenko, V. A. Tarasenko, A. V. Trochimchuk, A. O. Drozdova, V. V. Shmatenko

The ground of methodological approaches and systematization of nomenclature of medicinal products for the treatment of inflammatory diseases of paradont

Coming from medical-biological requirements to local medicinal therapy of inflammatory diseases of paradontium it has been summarised and systematized the nomeclature of domestic pharmaceutical market of medicinal products. Medical regimen of generalization paradontitis treatment was offered.

Key words: tissues of paradont, medicinal products, regeneration

Надійшла: 09.02.2012 р.

Контактна особа: Шматенко Олександр Петрович, канд. фармац. наук, доцент, полковник медичної служби, начальник кафедри військової фармації Української військово-медичної академії, вул. Курська, 13 а, м. Київ, 03049. Тел.: (50) 334-69-80.

УДК 615.916:666.363+615.916:546.57+61:539.12

Д. С. Савченко

Дослідження гострої токсичності нанокомпозита високодисперсного кремнезему з наносріблом

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

Ключові слова: наночастинки срібла, високодисперсний кремнезем, нанокомпозит, гостра токсичність

Розробка нових засобів лікування та профілактики інфекційних і гнійно-запальних захворювань є одним з пріоритетних напрямів розвитку фармакології [1, 2]. Провідна роль у лікуванні інфекційних хвороб належить антибіотикам [1, 3], але їхнє широке застосування призвело до появи феномена резистентності. За умов антибіотикорезистентності актуальним стає пошук принципово нових антибактеріальних засобів [4]. Попередніми дослідженнями доведено, що перспективними в плані пошуку високоактивних речовин з протимікробними властивостями є наночастинки (НЧ) металів, зокрема, наночастинки срібла (НЧС) та композити на його основі [5].

Інтерес до сполук цього металу пояснюється його високою активністю відносно багатьох мікроорганізмів, у сполученні з повільнішим розвитком резистентності [6]. Ці властивості зумовлюють перевагу срібла над антимікробними засобами. І хоча різні препарати на основі колоїдного срібла успішно застосовуються в медицині ще з початку XIX століття («Колларгол», «Протаргол», «Повіаргол», «Аргов», «Аргогель», «Гідропент» та ін.) [7], актуальним є дослідження нових лікарських речовин на основі сполук срібла з метою створення на їхній основі нових препаратів з антимікробною дією.

Одним з найперспективніших методів отримання наноматеріалів зі стабільними властивостями є введення НЧ у матриці різних типів [8].

Amber Nagy et al. [9] розробили метод іммобілізації НЧС на цеолітній мембрані, виготовленій літографічним способом. Дана сполука здатна пригнічувати ріст *E. Coli* [10]. Останнім часом також проводяться дослідження НЧС, зафіксованих у цеолітних порошках, які демонструють виражену протимікробну активність щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій [11]. Цеолітна мембран є більш привабливою як матриця для НЧС, ніж порошки, оскільки макроскопічні мембрани можуть бути вирощені на кераміці, металі, полімері та целюлозі [12], що дозволяє розширити сферу їхнього застосування, у тому числі потенційно за умов стаціонару.

В іншому дослідженні вивчена антибактеріальна та протигрибкова активність порошку натрієво-кальцієво-силікатного скла з низькою температурою плавлення, що містить НЧС. Сепіолітові волокна з вмонтованими НЧС, що містять монодисперсні НЧС (середній діаметр частинок складав 11 ± 9 нм), були використані як джерела НЧС. Цей порошок проявляє високу антибактеріальну (відносно грампозитивних і грамнегативних бактерій), а також протигрибкову (проти *I. orientalis*) активність [13].

Використання методу біохімічного синтезу дозволяє отримувати НЧ різних металів (Au, Ag, Cu, Zn, Co, Ni) у зворотних міцелах [14]. НЧ формуються у водному ядрі міцели в результаті відновлення іонів металу до атомів і наступної асоціації атомів і іонів. Особливістю методу є використання нетрадиційних відновників – рослинних пігментів з групи флавоноїдів; це забезпечує ряд переваг, важливих для практичного застосування НЧ [15]. Зокрема, виявляється можливим отримувати НЧ малого розміру (не більше 15 нм), стабільні в розчині на повітрі протягом тривалого часу (від декількох місяців до декількох років). Для модифікації твердих матеріалів НЧ наносяться

© Д. С. Савченко, 2012

шляхом адсорбції з розчину на різні тверді підкладки (тканини, вуглецеві матеріали, окис алюмінію, силікагель). Установлено, що як розчини НЧ, так і модифіковані ними матеріали мають помірні антимікробні, каталітичні чи інші корисні властивості [16].

S. Pal et al. [17] розробили активоване вугілля (АВ), збагачене нанокластерним сріблом, що виготовлене безпосереднім уведенням НЧС із попередньо приготовленого гідрозолю НЧС у пористу матрицю АВ. Композити НЧС з АВ також синтезовані з використанням звичайних теплових методів насичування. Хоча рентгеноструктурний аналіз і показав наявність кристалітів Ag у нанометровому діапазоні, АВ, оброблене гідрозолем НЧС, мало в своєму складі НЧС розміром < 14,4 нм. Отримані при проведенні електронної мікроскопії зображення демонструють те, що НЧС схильні до конгламерації при підвищенні температури, у результаті чого при проведенні синтезу композита НЧС та АВ методом термічного насичення утворюються НЧС значно більших розмірів. Порівняння антибактеріальної активності збагачених сріблом матеріалів, синтезованих шляхом осадження колоїдного срібла і методом звичайного теплового насичення, указує на те, що перший спосіб є більш ефективним у боротьбі з мікроорганізмами [17].

Отримання НЧС у кремнеземних матрицях привертає до себе увагу в зв'язку з наявністю в кремнеземі унікального комплексу фізико-хімічних і медико-біологічних властивостей (висока сорбційна ємність до білків, токсинів, відсутність алергенної та шкідливої дії на клітини, активація репаративних процесів у рані, поліпшення функції паренхіматозних органів і т. ін.) [18]. Співробітниками кафедри фармакології та клінічної фармакології НМУ імені О. О. Богомольця та Інституту хімії поверхні імені О. О. Чуйко НАН України розроблено новий високоефективний нанокомпозит ВКНС. Створення композита полягає в тому, що НЧС та нанодисперсного кремнезему поєднували шляхом механосорбційного покриття поверхні нанорозмірного кремнезему моношаром $AgNO_3$ у газовому дисперсійному середовищі та наступним термолізом солі, у результаті чого на поверхні нанодисперсного кремнезему утворюються НЧС розміром від 12 нм до 18 нм [19]. Отриманий методом механосорбційної обробки нанокомпозит ВКНС має високу антимікробну активність щодо мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* та *P. aeruginosa*, а виявлена в ході експерименту різна стійкість грамнегативних і грампозитивних бактерій до НЧС, які входять до складу нанокомпозиту ВКНС, залежить від особливостей будови мікробної клітини, фізико-хімічних процесів, що відбуваються на поверхні високодисперсного кремнезему, та інших причин, які вимагають подальшого вивчення [20].

Незважаючи на велику кількість публікацій у світовій літературі відносно протимікробної активності НЧС, порівняно мало уваги приділяють дослідженням їхньої токсичності *in vitro* та *in vivo*. Це пов'язано не тільки з тим, що срібло відноситься до важких металів, а також з тим, що об'єкти нанорозмірів можуть виявляти нові, іноді непередбачувані властивості [21]. При вивченні токсичності НЧС *in vivo* визначають токсичний вплив як при одноразових (гостра токсичність), так і при повторних уведеннях. Встановлено, що LD_{50} колоїдного срібла та срібла нітрату для мишей становить 100 та 125 мг/кг відповідно. Для порівняно менш розчинного оксиду срібла ця цифра становить 2820 мг/кг (щури) [22]. Однак ці цифри стосуються препаратів, які отримані традиційним способом без залучення нанотехнологій.

Автори [23] вказують, що LD_{50} НЧС при прийомі внутрішньо складає 1266 мг/кг та 284 мг/кг при ін'єкційному шляху введення, а дози в $1{,}32 \cdot 10^6$ частинок/см^3, 61 мкг/м^3 є нешкідливими для щурів Sprague_Dawley при вдиханні. Ordzhonikidze G., Ramaiyya L. K., Egorova E. M. [24] досліджували вплив розчину НЧС (розміри 9 ± 6 нм) зі стабілізатором (аніоногенна ПАР) при їхньому внутрішньоочеревинному введенні мишам лінії BALB/c. Установлено, що LD_{50} для такого препарату становить $1{,}9 \cdot 10^{-6}$ мг/г ваги (1,9 мкг/кг).

При цьому відзначено, що препарат був приблизно на 4 порядки токсичнішим ніж ПАР, що вводився окремо. Генотоксичний ефект НЧС автори пов'язують з хромосомними аберраціями та мутаціями під впливом НЧС [21].

Токсикологічний аспект медичного застосування НЧ є недостатньо вивченим, залишаючи досліднику більше питань, ніж відповідей. Суперечливою та маловивченою є проблема залежності токсичності від форми та розмірів НЧ, бракує досліджень із впливу НЧ на організм людини та тварин. Саме тому дані питання є ключовими в контексті безпечності новостворених препаратів НЧС та обмежують їхнє використання у медичній практиці [21].

Однією з вимог до потенційних лікарських засобів є співвідношення між їхньою ефективністю та токсичністю [25]. Більшість небажаних проявів можна передбачити, виходячи з експериментальних досліджень, що значною мірою дозволяють гарантувати безпечність клінічних випробувань і наступного медичного застосування нових лікарських засобів [25, 26]. Вивчення безпечності потенційних ліків, у тому числі гострої токсичності, є одним із найважливіших необхідних етапів розробки нових препаратів [25, 27].

Мета дослідження – визначення параметрів гострої токсичності нового нанокомпозита високодисперсного кремнезему з наносріблом (ВКНС) на лабораторних тваринах (мишах) при внутрішньошлунковому введенні.

Матеріали та методи. Досліджено нанокомпозит ВКНС, що був розроблений співробітниками кафедри фармакології та клінічної фармакології НМУ імені О. О. Богомольця та Інституту хімії поверхні імені О. О. Чуйко НАН України [19]. Досліди з тваринами проводили згідно з основними положеннями Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та з іншими науковими цілями, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Усіх тварин, яких використовували в експериментах, виростили у віварії НМУ імені О. О. Богомольця та утримували в стандартних умовах за температури 22–24 °С та відносної вологості 30–70 % з вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації з попереднім карантином протягом 14 днів. План досліджень, розглянутий та схвалений Комітетом з біоетики НМУ імені О. О. Богомольця, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, були дотримані.

Експеримент проведено на 40 білих мишах лінії BALB/c обох статей, масою тіла 18–22 г, віком 2–2,5 місяця. Досліджувану речовину суспендували в дистильованій воді та вводили тваринам одноразово вранці натщесерце внутрішньошлунково в об'ємі 1,5 мл в інтервалі доз 500–10000 мг/кг маси тіла, а також із розрахунку більше 15000 мг/кг маси тіла.

Спостереження за станом тварин проводили протягом 14 діб після введення речовин. У 1-й день експерименту тварини перебували під безперервним наглядом. Протягом спостереження враховували зовнішній стан тварин, особливості поведінки, інтенсивність і характер рухової активності, оцінювали прийом корму та води, функціонування життєво важливих органів і систем, визначали масу тварин, реєстрували терміни розвитку інтоксикації та загибелі тварин.

Дослідження гострої токсичності нанокомпозита ВКНС проводили в 2 етапи. На І етапі з метою визначення середньо-смертельної дози (LD_{50}) проведено вивчення гострої токсичності композита ВКНС (уміст НЧС 7,9 %) при одноразовому введенні досліджуваного композита внутрішньошлунково за методикою Т. В. Пастушенко зі співавт. [28]. Експеримент І етапу проведено на 32 мишах. Досліджувану речовину вводили внутрішньошлунково в інтервалі доз 500–10000 мг/кг маси тіла. Контрольним мишам уводили 1,5 мл розчинника.

На основі результатів І етапу виконували ІІ етап дослідження, на якому визначали переносимість тваринами одноразового введення максимально допустимої дози нанокомпозита та розчинника. Дослідження ІІ етапу прове-

дено на 8 мишах. Синтезований нанокомпозит уводили внутрішньошлунково в дозі 15903 ± 675 мг/кг маси тіла 3 самкам та 3 самцям у вигляді водної суспензії в 1,5 мл.

Результати та їх обговорення. Результати I етапу дослідження (табл. 1) свідчать про відсутність загибелі мишей при внутрішньошлунковому одноразовому введенні композита ВКНС в інтервалі доз 500–10000 мг/кг. Під час спостереження за тваринами протягом 14 днів при введенні середніх та низьких доз композита ВКНС видимих ознак впливу на загальний стан, поведінку, апетит, стан шкіри та слизових оболонок не було зареєстровано. При введенні високих доз композита ВКНС (вище 3000 мг/кг) у перші дні після введення тварини були менш активні, відзначалися незначна слабкість та млявість, які потім зникали.

У результаті II етапу досліджень гострої токсичності нової сполуки встановлено, що нанокомпозит ВКНС у дозі 15903 ± 675 мг/кг маси тіла викликав у тварин незначні токсичні явища: млявість, зменшення рухової активності та тимчасову відмову від їжі впродовж 6–12 год, що пов'язано з шлунковим дискомфортом, викликаним уведенням значної кількості нанокомпозита. Тварини залишились живими, їхній стан повернувся до норми протягом кількох годин. При спостереженні протягом наступних 2-х тижнів стан тварин залишався задовільним.

За результатами проведених досліджень параметрів гострої токсичності нового нанокомпозита ВКНС встановлено, що при його одноразовому внутрішньошлунковому введенні мишам LD_{50} встановити не вдалося, через те, що введення композита в інтервалі доз від 500 до 10000 мг/кг маси тіла та в дозі вище 15000 мг/кг маси тіла не викликало загибелі жодної тварини. З урахуванням шляху введення відповідно до класифікації речовин за токсичністю [24] нанокомпозит ВКНС віднесено до VI класу небезпеки (відносно нешкідливі речовини).

Зважування тварин проводили на 3, 7 і 14 добу. Маса тіла тварин, яким вводили нанокомпозит ВКНС у дозі вище 15000 мг/кг маси тіла, не відрізнялася від маси тварин групи інтактного контролю (табл. 2).

При макроскопічному огляді внутрішніх органів тварин не виявлено ознак інтоксикації або інших проявів патологічних процесів. За розміром, кольором, консистенцією та розташуванням внутрішні органи тварин не виходили за межі норми і не відрізнялися від внутрішніх органів групи мишей інтактного контролю. Вірогідних відмінностей між масовими коефіцієнтами внутрішніх органів дослід-

Таблиця 1

Показники гострої токсичності нанокомпозита ВКНС при внутрішньошлунковому введенні мишам

Доза, мг/кг	Кількість тварин	Кількість тварин, що загинули / кількість тварин у групі	
		Самці	Самки
Результати I Етапу дослідження			
500	6	0/3	0/3
1000	6	0/3	0/3
3000	6	0/3	0/3
5000	6	0/3	0/3
10000	6	0/3	0/3
Розчинник-контроль	2	0/1	0/1
Результати II Етапу дослідження			
≥15000	6	0/3	0/3
Розчинник-контроль	2	0/1	0/1

Таблиця 2

Маса тіла мишей після внутрішньошлункового введення нанокомпозита ВКНС у дозі вище 15000 мг/кг маси тіла (M ± m)

Групи тварин	Маса тварин, г			
	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Результати II Етапу дослідження				
Самки				
Нанокомпозит ВКНС	21,7±0,3	21,3±0,2	21,6±0,2	21,8±0,3
Розчинник-контроль	19,8	19,9	20,3	20,6
Самці				
Нанокомпозит ВКНС	20,0±0,2	19,3±0,1	19,6±0,2	19,9±0,1
Розчинник-контроль	19,9	20,0	20,6	20,8

Примітки. Тут і в табл. 3: n = 8; P = 95.

Таблиця 3

Масові коефіцієнти внутрішніх органів мишей при внутрішньошлунковому введенні нанокомпозита ВКНС у дозі вище 15000 мг/кг маси тіла

Умови досліду	Стать тварин	Стат. показник	Печінка	Нирки	Серце	Легені	Селезінка
Нанокомпозит ВКНС	Самки	M	5,01	1,03	0,44	0,74	0,73
		m	±0,08	±0,01	±0,01	±0,06	±0,04
	Самці	M	5,32	1,30	0,41	0,80	0,80
		m	±0,07	±0,05	±0,03	±0,02	±0,02
Розчинник-контроль	Самки	M	5,00	1,02	0,45	0,80	0,77
	Самці	M	5,27	1,34	0,42	0,83	0,82

них та контрольних груп не виявлено (табл. 3).

Нижча токсичність нанокомпозита ВКНС порівняно з препаратами колоїдного срібла, срібла нітрату, оксиду срібла та вільних НЧС [22–24] пов'язана з фізико-хімічними властивостями та структурою композита [29, 30]. До складу нанокомпозита ВКНС входить 7,9 % НЧС. Відповідно при внутрішньошлунковому введенні ВКНС (15000 мг/кг) доза НЧС становила 1185 мг/кг маси тіла. Технологія синтезу нанокомпозита ВКНС дозволяє отримати рівномірний розподіл моношару НЧС на поверхні високодисперсного кремнезему [29]. Така структура унеможливлює вихід НЧС з матриці нанокомпозита, що дозволяє уникнути прямої подразнюючої дії срібла на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту та вивільнення НЧС у системний кровообіг.

Доза 15 000 мг/кг маси тіла при внутрішньошлунковому введенні характеризує нанокомпозит ВКНС як відносно нешкідливий відповідно до класифікації речовин за токсичністю, тому подальше встановлення середньолетальної дози препарату недоцільне.

Отримані результати свідчать про перспективність подальших токсико-фармакологічних досліджень нанокомпозита ВКНС з метою створення на його основі протимікробного лікарського засобу.

Висновки

1. При одноразовому внутрішньошлунковому введенні мишам досліджуваного нанокомопозита ВКНС не спостерігали дозозалежного гострого отруєння тварин, а значення LD_{50} є вищим за 15000 мг/кг маси тіла.
2. За експериментально визначеними параметрами гострої токсичності новий нанокомопозит ВКНС згідно з класифікацією речовин за токсичністю належить до VI класу – відносно нешкідливі речовини.

1. *Березняков И. Г.* Инфекции и антибиотики / И. Г. Березняков.– Х.: Константа, 2004.– 448 с.
2. *Рачинский И. Д.* Проблемы инфекции в современной клинике внутренних болезней / И. Д. Рачинский // Вісник СумДУ.– 2001.– № 11 (32).– С. 79–84.
3. *Вікторов О. П.* Антибіотики: проблеми безпеки під час медичного застосування / О. П. Вікторов // Здоров'я України.– 2008.– № 21.– С. 42.
4. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам / WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2a.– Режим доступу: http://www.antibiotic.ru/fi les/pdf/execsumr.pdf/
5. *Alexander J. W.* History of the medical use of silver / J. W. Alexander // Surg Infect.– 2009.– V. 10, № 3.– P. 289–292.
6. *Silver S.* Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds / S. Silver, L. T. Phung, G. Silver // J. Ind Microbiol Biotechnol.– 2006.– V. 33.– P. 627–634.
7. *Благитко Е. М.* О целесообразности введения нанопрепаратов серебра как антибактериальных и противовирусных средств в медицинскую практику в РФ // Нанотехнологии в медицине и биологии: Матер. науч.-практ. конф. с междунар. участием / Е. М. Благитко.– Новосибирск, 2007.– С. 36–39.
8. Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства / С. П. Губин, Ю. А. Кокшаров, Г. Б. Хомутов [и др.] // Успехи Химии.– 2005.– Т. 74, № 6.– Р. 539–574.
9. Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action / N. Amber, H. Alistair, S. Supriya [et al.] // International Journal of Nanomedicine.– 2011.– № 6.– P. 1833–1852.
10. Synthesis of silver-zeolite films on micropatterned porous alumina and its application as an antimicrobial substrate / S. Sabbani, D. Gallego-Perez, A. Nagy [et al.] // Micropor Mesopor Mat.– 2010.– V. 135, № 1–3.– P. 131–136.
11. Fabrication of silver nanoparticles doped in the zeolite framework and antibacterial activity / K. Shameli, M. B. Ahmad, M. Zargar [et al.] // Int J Nanomedicine.– 2011.– № 6.– P. 331–341.
12. *Tavolaro A.* Zeolite membranes / A. Tavolaro, E. Drioli // Adv Mater.– 1999.– № 11.– P. 975–996.
13. The antibacterial and antifungal activity of a soda-lime glass containing silver nanoparticles / L. Esteban-Tejeda, F. Malpartida, A. Esteban-Cubillo [et al.] // Nanotechnology.– 2009.– V. 20, № 8.– P. 085103.
14. *Egorova E. M.* Synthesis of metallic nanoparticles in reverse micelles in the presence of quercetin / E. M. Egorova, A. A. Revina // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.– 2000.– № 168.– P. 87–96.
15. *Егорова Е. М.* Наночастицы металлов в растворах: биохимический синтез и применение / Е. М. Егорова // Нанотехника.– 2004.– № 1.– С. 15.
16. *Егорова Е. М.* Растворы наночастиц металлов и модифицированные ими материалы: свойства и применение // Труды Международной научно-практической конференции «Нанотехнологии – производству 2004» / Е. М. Егорова.– М., 2005.– С. 26.
17. Nanocrystalline silver supported on activated carbon matrix from hydrosol: antibacterial mechanism under prolonged incubation conditions / S. Pal, Y. K. Tak, J. Joardar [et al.] // J Nanosci Nanotechnol.– 2009.– V. 9, № 3.– P. 2092–2103.
18. *Носач Л. В.* Використання аморфного високодисперсного кремнезему у медицині / Л. В. Носач, Л. Б. Гнатишин // Наукові записки. Сер. Природничі науки.– 2003.– Т. 22.– С. 442–447.
19. *Носач Л. В.* Одержання і характеризація кластерів срібла на поверхні нанодисперсного кремнезему / Л. В. Носач, Д. С. Савченко, О. М. Власенко // Український науковий-медичний молодіжний ж-л.– 2011.– № 4.– С. 178.
20. *Савченко Д. С.* Протимікробні властивості нанокомпозита «високодисперсного кремнезему-кластерів срібла» / Д. С. Савченко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.– 2012.– № 2 (9).– С. 32.
21. Медичне застосування наночастинок срібла: токсикологічний аспект / І. С. Чекман, А. О. Прискока, В. Ф. Бабій, О. В. Антоненко [та ін.] // Современные проблемы токсикологии.– 2010.– № 4.– Р. 10–13.
22. *Rosmarine A.* Toxicity summary for silver / A. Rosmarine.– Oak Ridge, Tennessee, 1992.– P. 2.
23. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague Dawley rats / J. H. Ji, J. H. Jung, S. S. Kim [et al.] // Inhal. Toxicol.– 2007.– V. 19, № 10.– P. 857–871.
24. *Ordzhonikidze G.* Genotoxic effects of silver nanoparticles on mice in vivo / G. Ordzhonikidze, L. K. Ramaiyya, E. M. Egorova // Acta naturae.– 2009.– № 3.– P. 99–101.
25. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. реком / За ред. О. В. Стефанова.– К.: ВД «Авіцена», 2001.– С. 74–97.
26. Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів: наказ МОЗ України від 14.12.2009 № 944 – Режим доступу http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg = z0053-10/
27. *Лойт А. О.* Профилактическая токсикология: Рук. для токсикологов-экспериментаторов / А. О. Лойт, М. Ф. Савченков.– Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1996.– 279 с.

28. *Пастушенко Т. В*. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / [Т. В. Пастушенко, Л. Б. Маруший, А. А. Жуков и др.] // Гигиена и санитария.– 1985.– № 6.– С. 46–48.
29. Пат. 69526 Україна, МПК (2012.01) A61K 6/00. Спосіб одержання нанокомпозита високодисперсного кремнезему-кластерів срібла з протимікробними та сорбційно-детоксикаційними властивостями / Савченко Д. С., Чекман І. С., Воронін Є. П., Носач Л. В.; заявник і власник патенту НМУ імені О. О. Богомольця.– № u 2011 15221; заяв. 22.12.2011; опубл. 25.04.2012, Бюл. № 8.
30. *Савченко Д. С*. Зміна сорбційних властивостей композиту високодисперсного кремнезему з наночастинками срібла в залежності від кислотно-основних властивостей середовища / Д. С. Савченко, О. А. Покотило // Укр. науково-медичний молодіжний журнал.– 2012.– № 2.– С. 118.

Д. С. Савченко

Исследование острой токсичности нанокомпозита высокодисперсного кремнезема с наносеребром

Изучена острая токсичность нанокомпозита высокодисперсного кремнезема с наносеребром при однократном внутрижелудочном введении мышам. Установлено, что согласно классификации веществ по токсичности исследованный композит относится к VI классу соединений – относительно безвредные вещества.

Ключевые слова: наночастицы серебра, высокодисперсный кремнезем, нанокомпозит, острая токсичность

D. S. Savchenko

Investigation of acute toxicity of nanocomposite highly dispersed silica with silver nanoparticles

The acute toxicity of nanocomposite highly dispersed silica with silver nanoparticles was investigated after single intragastric administration to mice. It was established that in compliance with the classification of medicines on toxicity, nanocomposite belongs to the VI class of toxicity – relatively harmless substances.

Keywords: silver nanoparticles, highly dispersed silica, nanocomposite, acute toxicity

Надійшла: 21.05.2012 р.

Контактна особа: Савченко Дмитро Сергійович, аспірант, кафедра фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ, 03057. Тел.: (93) 631-22-96. E-mail: savchenko_ds@ukr.net

УДК 61(092С):615.5

І. С. Чекман, Л. І. Казак

Доценти кафедри фармакології та клінічної фармакології: М. І. Сластьон, А. М. Домбровська, О. І. Козловська

До 170-річчя кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця

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

Истинное сокровище для людей – умение трудиться
Езоп (VI–V роки до нашої ери)
Стародавньогрецький письменник

Ключові слова: фармакологія, кафедра, історія життя, наукова, педагогічна діяльність

Аналізуючи науково-педагогічну діяльність кафедри, приходиш до висновку – праця кожного співробітника – від завідуючого до лаборанта, має велике значення як у розвитку викладання предмета, так і в науковій діяльності. У 2011 році кафедра фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця відзначила 170 років із дня її заснування. За такий значний період діяльності в її історії залишилися в пам'яті славні імена, які прославили науково-педагогічну діяльність кафедри [1, 2]. У даній публікації узагальнено внесок в історію кафедри доцентів М. І. Сластьон, А. М. Домбровської та О. І. Козловської [3, 4].

Сластьон Марія Іванівна (1905–1986)

Марія Іванівна народилася 14 червня 1905 року в с. Левіндовці Бобрикської волості Чернігівської області в родині селянина-середняка. У 1914–1917 роках навчалася в церковно-приходській школі в м. Ромнах, у 1917–1922 роках продовжувала навчання в семирічній школі, у 1922–1924 роках навчалася в робітничо-селянському університеті в м. Ромнах.

Сластьон Марія Іванівна (1905–1986)

З 1925 по 1931 рік – студентка Харківського медичного інституту. Потім працювала лікарем в амбулаторії села Гуляйполе Дніпропетровської області. З 1933 по 1936 рік – аспірант Українського інституту експериментальної медицини (м. Харків), у 1936–1938 роках – асистент кафедри фармакології Харківського стоматологічного інституту, у 1939–1941 роках – асистент кафедри фармакології медичного інституту (м. Харків).

У 1940 році під керівництвом академіка О. І. Черкеса успішно захистила кандидатську дисертацію на тему «К

© Колектив авторів, 2012

фармакодинамике сердечного гликозида периплоцина из Periploca graeca». У 1941–1943 роках не працювала, проживала в Харкові. У 1944–1945 роках– асистент кафедри фармакології Харківського медичного інституту, а з 1947 року – доцент. У 1947 році за наказом МОЗ України переведена на посаду доцента Київського медичного інституту, де працювала до виходу на пенсію в 1969 році.

М. І. Сластьон – висококваліфікований спеціаліст і сумлінний викладач фармакології, користувалася авторитетом у колег і студентів. Завжди допомагала молодим науковцям, аспірантам і студентам. Багато років керувала роботою студентського наукового гуртка кафедри. Автор більше 40 наукових робіт. Була науковим редактором відомого довідника О. І. Черкеса «Пособие по фармакотерапии», співавтором підручника з рецептури для студентів III курсу, а також довідника фельдшера.

Один із напрямів наукової діяльності М. І. Сластьон – особливості взаємодії серцевих глюкозидів та глюкокортикоїдів. Теоретичним підґрунтям для таких досліджень був факт, що в цих лікарських засобах є подібна до глюкокортикоїдів хімічна структура – циклопентанопергідрофенантрен. Завдяки сучасним дослідженням встановлено: ці речовини відносяться до метаболітів. В організмі людини є дигіталісо- та строфантиноподібні речовини. Фактично за 40 років до встановлення наявності даних речовин в організмі людини М. І. Сластьон уперше у світі проводила дослідження з цієї важливої для медицини і фармакології проблеми.

М. І. Сластьон були притаманні вміння на лекціях та практичних заняттях донести студентам складний фармакологічний матеріал з високою педагогічною майстерністю, сприяючи цим засвоєнню предмету. Автори статті мали змогу вчитися в Марії Іванівни майстерності читання лекцій і проведення занять. Ще одна особливість природного таланту цієї людини – вміння редагувати наукові статті, дисертації, тези. Багато порад Марії Іванівни і сьогодні використовують автори цієї статті. Не можна забути її щоденних консультацій під час виконання кандидатських дисертацій. Будучи на пенсії, вона часто заходила на кафедру, цікавилась станом науково-педагогічної діяльності, особливо станом досліджень із загальної фармакології.

Домбровська Антоніна Михайлівна (1920–2009)

Чоловік Марії Іванівни загинув на фронті під час Великої Вітчизняної війни, і вона все своє свідоме життя присвятила вихованню й навчанню дочки та кафедрі фармакології.

Домбровська Антоніна Михайлівна (1920–2009)

А. М. Домбровська – кандидат медичних наук, доцент, народилася 1 березня 1920 року в м. Києві в родині службовців. У 1938 році після закінчення середньої школи № 141 поступила в 2-й Київський медичний інститут, де навчалася до початку Великої Вітчизняної війни. Під час німецької окупації працювала на Київській макаронній фабриці в медпункті медичною сестрою. Після визволення радянськими військами Києва продовжила навчання в Київському медичному інституті імені О. О. Богомольця, який закінчила в 1944 році з відзнакою й отримала диплом лікаря.

З 1945 року життя й праця А. М. Домбровської були нерозривно пов'язані з кафедрою фармакології Київського медичного інституту імені О. О. Богомольця, де вона працювала до виходу на пенсію в 1986 році. Ще під

час навчання в інституті наукові здібності і потяг до викладацької роботи А. М. Домбровської помічені викладачами. Після закінчення інституту їй запропонували вступити до аспірантури на кафедру фармакології, яку очолював академік АМН СРСР О. І. Черкес. Під науковим керівництвом цього видатного вченого вона підготувала і в 1948 році успішно захистила кандидатську дисертацію на тему «К фармакологии стимуляторов центральной нервной системы – фенамина и первитина». І з цього часу працювала спочатку асистентом, а згодом – старшим викладачем, доцентом кафедри, якій присвятила все своє творче та педагогічне життя. Основні наукові інтереси та дослідницька діяльність присвячені фармакології серцево-судинних засобів та стимуляторів центральної нервової системи. В останні роки А. М. Домбровська спільно з асистентом кафедри В. А. Крементуло під керівництвом академіка О. І. Черкеса проводила дослідження нової групи лікарських засобів – гангліоблокаторів. Упровадження в медичну практику пірилену обгрунтовано дослідженнями цих вчених і педагогів.

А. М. Домбровська органічно поєднувала викладацьку та наукову діяльність. Вона є автором понад 50 наукових праць. Неодноразово брала участь у наукових конференціях і семінарах, де виступала з доповідями, керувала студентським науковим гуртком, постійно підвищувала свою кваліфікацію. Своїми людськими якостями та викладацьким талантом об'єднувала біля себе студентів та колег, які й донині її пам'ятають. Антоніна Михайлівна відзначалася скромністю, сердечністю, духовним благородством, високою душевною щедрістю та простотою. Викладачі та співробітники кафедри відмічали надзвичайну інтелігентність Антоніни Михайлівни, повагу до кожного, з ким працювала чи розмовляла.

За багаторічну плідну працю, активну громадську діяльність А. М. Домбровська неодноразово отримувала грамоти та подяки від керівництва Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Антоніна Михайлівна померла 18 липня 2009 року.

Козловська Ольга Іванівна (1920–2007)

Ольга Іванівна Козловська, доктор медичних наук, доцент, народилася 13 липня 1920 року в с. Богданівка Яготинського району, на той час Полтавської області (зараз Київська область) у сім'ї військовослужбовця. Ольга Іванівна навчалася в початковій школі в сусідньому селі до 12 років. Потім два роки продовжувала навчання в Царському селі під Ленінградом, куди переїхала родина в зв'язку з сумними сімейними обставинами (втрата батьками 4 дітей) та відсутністю засобів до існування. Після закінчення школи Ольга Іванівна вирішила отримати повну середню освіту, і з цією метою вступила до школи робітничої молоді. Так званий робфак знаходився в місті Полтаві, а пізніше був переведений до міста Києва. Після отримання середньої освіти з 1938 до початку 1941 року навчалася в Київському державному університеті імені Т. Г. Шевченка на фізико-математичному факультеті. Перед війною в подружньому житті Ольги Іванівни сталася щаслива подія – народився син, але за декілька днів почалась Велика Вітчизняна війна. Вона змушена була евакуюватися з Києва, і працювала в місті Уфі Башкирської РСР начальником спецвідділу проектно-монтажного тресту. Повернувшись до Києва, з кінця 1943 до вересня 1944 року працювала начальником спецвідділу наркомату охорони здоров'я УРСР.

У 1944 році Ольга Іванівна вступила на лікувальний факультет Київського медичного інституту. На той час студенти навчалися та проходили практику в шпиталях, де було багато поранених під час війни. Після закінчення інституту в 1949 році поступила до аспірантури на кафедру фармакології, яку очолював академік Олександр Ілліч Черкес, під керівництвом якого виконала і в червні 1953 року захистила кандидатську дисертацію на тему «Экспериментальные исследования по фармакологии парааминосалициловой кислоты». Починаючи з 1952 року, працювала на посаді асистента кафедри

Козловська Ольга Іванівна (1920–2007)

фармакології. Від 1963 до 1986 року Ольга Іванівна працювала на посаді доцента кафедри фармакології. У липні 1964 року вона отримала звання доцента на кафедрі фармакології. Лекції О. І. Козловської відрізнялися педагогічною майстерністю та вмінням зацікавити студентів до вивчення предмета.

На той час у колі її наукових інтересів був пошук та дослідження гіполіпідемічних та антихолестеринемічних засобів. Працюючи над цією тематикою, вона вивчала механізми дії нового на той час лікарського засобу – цетаміфену, який пізніше був затверджений для клінічного використання. У лютому 1975 року захистила докторську дисертацію на тему «Експериментальні дослідження з фармакології антихолестеринемічних засобів». На сьогодні дана група препаратів широко застосовується в медичній практиці. Можна стверджувати, що академік О. І. Черкес та його учениця, доктор медичних наук О. І. Козловська започаткували дослідження з фармакології протиатероматозних препаратів.

Крім викладацької та науково-дослідницької діяльності, що відображена в 70 публікаціях, Ольга Іванівна займалася методичною та виховною роботою – брала безпосередню участь у створенні навчальних програм для студентів та викладачів ВУЗів, які проходили курс підвищення кваліфікації, методичних рекомендацій, лекцій та практичних занять тощо. Колектив кафедри завжди приділяв багато уваги виховній роботі як з вітчизняними, студентів, так і з іноземними студентами. Зокрема, Ольга Іванівна брала активну участь у роботі земляцтва Йорданських студентів.

За часи своєї науково-педагогічної діяльності Ольга Іванівна отримувала чимало подяк, грамот, медалей. Вона була ветераном праці та ветераном війни. Всім колегам відома її чесність, висока кваліфікація, порядність та доброта.

Ольга Іванівна померла на 87 році життя – 21 січня 2007 року.

Таким чином, науково-педагогічна діяльність доцентів кафедри фармакології сприяла розвитку наукової роботи, а також викладанню лікознавства студентам медичного університету. Їхній учитель академік О. І. Черкес часто говорив, що він гордиться своїми учнями, які своєю професійною діяльністю сприяли розвитку як фармакологічної науки, так і успішному викладанню предмета. Змістом життя цих людей була відданість роботі й повага до студентів, колег. Це були мудрі й доброзичливі люди, які щедро ділилися своїми знаннями та досвідом трудового життя.

Відомий російський письменник М. Г. Чернишевський писав: «Кто работает с любовью, тот вносит поэзию везде». Доценти кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця М. І. Сластьон, А. М. Домбровська, О. І. Козловська працювали з любов'ю над науковими проблемами, викладаючи студентам фармакологію як поезію.

1. *Чекман И. С.* Академик А. И. Черкес – ученый, педагог, гражданин (1824–1974). Фармаколог / И. С. Чекман, С. Б. Французова, Н. А. Горчакова // Междун. медиц. журнал.– 2000.– Т. 6, № 6.– С. 114–118.
2. Учитель и ученики (к 100-летию со дня рождения академика А. И. Черкеса / Тринус Ф. П., Чекман И. С., Горчакова Н. А. [и др.]) // Современные проблемы токсикологии.– 2004.– № 2.– С. 61–63.

3. *Чекман І. С.* Фармакологія. Підручник для студентів медичних факультетів / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, Л. І. Казак.– [2 видання].– Вінниця: Нова книга, 2010.– 784 с.
4. Кафедра фармакології та клінічної фармакології: історичні етапи наукової, педагогічної та громадської діяльності / Москаленко В. Ф., Чекман І. С., Горчакова Н. О. [та ін.] // Український науково-медичний молодіжний журнал.– 2011.– № 4.– С. 5–20.

При підготовці статті автори використовували матеріали особистих справ М. І. Сластьон, А. М. Домбровської, О. І. Козловської, наданих працівниками архіву Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, за що висловлюємо щиру вдячність.

И. С. Чекман, Л.И. Казак

Доценты кафедры фармакологии и клинической фармакологии: М. И. Сластьон, А. М. Домбровская, О. И. Козловская
(К 170-летию кафедры фармакологии и клинической фармакологии Национального медицинского института имени А. А. Богомольца)

В статье обобщена педагогическая и научная деятельность выдающихся фармакологов, воспитателей молодежи, доцентов кафедры фармакологии и клинической фармакологии: Сластьон Марии Ивановны, Домбровской Антонины Михайловны, Козловской Ольги Ивановны.

Ключевые слова: фармакология, кафедра, история жизни, научная, педагогическая деятельность

I. S. Chekman, L. I. Kazak

Docents of pharmacology and clinical pharmacology department: M. Slastyon, A. Dombrovska, O. Kozlovska
(For 170 anniversary of the department pharmacology and clinical pharmacology O. O. Bogomolets National medical university)

Pedagogical and scientific life of the outstanding pharmacologists, educators of youth, docents of the pharmacology and clinical pharmacology department – M. Slastyon, A. Dombrovska, O. Kozlovska are generalized in this article.

Key words: pharmacology, department, history of life, scientific, pedagogical activity

Надійшла: 28.03.2012 р.

Контактна особа: Чекман Іван Сергійович, член-кореспондент НАМН України, професор, завідувач кафедри, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ, 03057. Тел.: (67) 506-37-69.

CONTENT

REVIEWS

Merzlikin S. I., Kucher T. V., Zhuravel I. A. The informative review of dangerous results of lamotrigine use 3

Chekman I. S., Gorchakova N. A., Nagornaya E. A., Nagornaya T. I., Zagorodniy M. I., Dovgan R. S. Experimental models of arterial hypertension 10

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

Semenenko N. O., Stepanyuk G. I., Chornoivan N. G., Skorina D. U., Kovalenko S. I., Drachuk O. P. Influence of derivates of 4-oxo(amino)chinazolin (compounds DSK-38 and DSK-39) on cerebral haemodynamics in condition of experimental postreperfusional ischemic violation of the brain 21

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

Anisimova S. I., Kovalenko V. M., Shayakhmetova G. M., Bondarenko L. B., Matvienko A. V. Influences of antitubercular medicines on some isoforms of cytochrome P-450 mRNA levels expression in rats liver 26

Gerush O. V., Lenitskaya E. B., Laryanovskaya J. B. Influence of capsule «Hepafisan» on the state of the rats liver under chronic hepatitis model 32

Gruzina T. G., Dybkova S. M., Priskoka A. O., Rieznichenko L. S., Ulberg Z. R., Chekman I. S. Silver nanoparticles study by criteria of genotoxicity, mutagenicity and influence on probiont bacteria strains of human and animal gastrointestinal tract 40

Koyro O. O., Shtrygol S. Yu. Influence of the goutweed (*Aegopodium podagraria L.*) preparations and kaempferol 3-0-galactoside on uric acid exchange in normal and hyperuricemic mice 47

Filipets N. D. The influence of Flocalin on some indexes of kidney excretion under conditions of salt loading 53

Kharchenko O. I., Bogun L. I., Ostapchenko L. I. Zinc content in the cells on different rats organs following chronic alcoholic intoxication and administration of zinc acetate 57

Tsubanova N. A. Study of hepatoprotective effect on spirocyclic oxindolic derivate in the conditions of acute tetrachloromethane hepatitis 61

DEVELOPMENT OF NEW METHODOLOGICAL PROCEDURES

Gudzenko A. V., Tsurkan O. O., Kovalchuk T. V. Search of markers for standardization of components of multicomponent plant medicines with tonic activity 66

CLINICAL PHARMACOLOGY

Shmatenko A. P., Tarasenko V. A., Trochimchuk A. V., Drozdova A. O., Shmatenko V. V. The ground of methodological approaches and systematization of nomenclature of medicinal products for the treatment of inflammatory diseases of paradont 75

RESEARCHES OF YOUNG SCIENTISTS

Savchenko D. S. Investigation of acute toxicity of nanocomposite highly dispersed silica with silver nanoparticles 79

PERSONALITIES

Chekman I. S.,. Kazak L. I. Docents of pharmacology and clinical pharmacology department: M. Slastyon, A. Dombrovska, O. Kozlovska. For 170 anniversary of the department pharmacology and clinical pharmacology O. O. Bogomolets National medical university 86