

Двомісячний
науково-практичний
журнал

№ 2/1999

Заснований 1993 р.
Київ
Видавничий дім "АВІЦЕНА"

ЗМІСТ

СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ ФАРМАКОТЕРАПІЇ СЕРЦЕВО-СУДИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Коваленко В.М. Сучасні технології лікування і формування фармацевтичного ринку кардіологічних лікарських засобів в Україні	3
Карнаух Е.В., Киричок Л.Т. Патогенетичний аспект кардіопротекторної дії антистресових засобів (Огляд літератури)	7
Стародубцев С.Г. Клініко-біохімічні показники у хворих на ішемічну хворобу серця із супутнім цукровим діабетом та можливі шляхи корекції пробуколом	12
Березін О.Є. Непептидний антагоніст ангіотензин-1 рецепторів лозартан у терапії хронічної симптоматичної серцевої недостатності	15
Серединська Н.М. Перспективи та доцільність впровадження у практику нікардипіну ...	20

ФАРМАКОТЕРАПІЯ В АКУШЕРСТВІ ТА ГІНЕКОЛОГІЇ

Тимочко М.Ф., Беседін В.М., Семенина Г.Б. Ефективність препарату танакан у терапії пізніх гестозів	23
Паєнок О.С. Вплив комплексної антиоксидантної терапії на перебіг пологів та післяпологового періоду при пізніх гестозах вагітних	26
Федченко С.М., Трушкіна С.С., Фоміна Л.А., Квітка В.Г. Можливість застосування ацикловіру у вагітних з генітальною вірусною інфекцією	30
Стебло П.Й., Забокрицький А.В., Флехнер В.М. Ефективність поєднання ентеросгелю з черезсудинним лазерним опроміненням крові в комплексному лікуванні гострих післяпологових ендометритів	32
Сергієнко С.В. Імунокорекція в комплексній терапії ускладнень вагітності у жінок регіону аварії на Чорнобильській АЕС	37
Шевага В.М., Паєнок А.В., Тютюко А.О. Вплив ново-паситу на психоемоційний стан жінок з клімактеричним синдромом	39
Солонець М.І., Медведь В.І. Застосування гелів преїдидил та простин Е ₂ для підготовки шийки матки та індукції пологів у хворих на цукровий діабет	43

ОГЛЯДИ

Бекетова Г.В. Фармакотерапія Helicobacter pylori-асоційованих гастродуоденальних захворювань у дітей та підлітків	46
---	----

Ю.І.Бажора, В.Й.Кресюн, Д.Ю.Андронов, В.В.Годован,
Б.О.Волошенко, І.М.Шевченко, А.А.Константинова

Можливості лазерної кореляційної спектроскопії у фармакологічних дослідженнях

Одеський державний медичний університет

Однією з актуальних проблем фармакології є пошук нових методів контролю за ефективністю застосування фармакотерапії, поведінкою лікарських засобів в організмі в цілому та перебіг патологічного процесу [1]. Останніми роками з'явився ряд досліджень з використанням діагностичних можливостей лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС), які дозволяють запропонувати її для широкого застосування в експериментальній та клінічній фармакології як одного з доступних методів фармакологічного скринінгу [2].

Метод ЛКС відрізняється особливостями, які дають йому перевагу перед іншими. По-перше, ЛКС, порівняно з фракційними методами дослідження (хроматографія, ультрацентрифугування тощо), дозволяє вивчати нативні біологічні проби та вимірювати інтегральні міжмолекулярні взаємодії, а також оцінювати агрегаційну рівновагу між низько- та високомолекулярними комплексами та іншими компонентами біологічної рідини, зафіксувати мультипараметрові конформаційні зміни в середовищі, яке досліджується. По-друге, для дослідження використовується невелика кількість біологічного матеріалу (0,2-0,5 мкл). Можливо, наприклад, використовувати плазму крові, одержану з пальця. По-третє, метод має велику експресивність: дослідження одного зразка проводиться не більше 10 хв. З'єднання ЛК-спектра з комп'ютером дозволяє швидко обробляти інформацію, класифікувати спектри та архівувати їх.

У даній роботі наведені результати досліджень, які дозволяють продемонструвати методичні можливості ЛКС-метрії у фармакології. Дослідження бу-

ли проведені на статевозрілих щурах лінії Вістар масою 200-250 г. Тварин було розподілено на декілька груп - інтактні; тварини, у яких моделювали стрес-реакцію шляхом депривації парадоксальної фази сну; для порівняння також брали групи тварин з експериментальним токсичним гепатитом та перитонітом. Кров для дослідження брали з хвостової вени. Зразки плазми крові готували раніше описаним способом [3] за допомогою ЛК-спектрометра, розробленого в НДІ ядерної фізики РАН (м.Гатчина). Результати досліджень обробляли та класифікували на ПЕОМ із застосуванням спеціального пакета програм. Стан гомеостазу плазми оцінювали за характером гістограм розподілення часток та відносним їх внеском у світлорозсіювання [2].

Дослідження плазми крові групи інтактних тварин показало, що середній ЛК-спектр має бімодальне розподілення з піками найбільшого внеску в світлорозсіювання в районах 8,19 нм (14,39%) та 73,1 нм (85,61%), що складає, в основному, низько- і середньомолекулярні часточки (рис. 1А). Необхідно відмітити, що, в цілому, ЛК-спектр плазми крові щурів відповідає ЛК-спектру плазми здорових людей (рис. 1Б). Це дає підставу, певною мірою, зіставити результати експериментальних та клінічних досліджень. ЛКС показала себе як чутливий метод в інтегральній оцінці гомеостазу. Класифікаційний аналіз, наприклад, дозволив чітко диференціювати «зимову» та «весняну» групи, причому, індивідуальні коливання спектрів у «весняній» групі були менш вираженими, ніж у «зимовій» (рис. 2). Проведені раніше дослідження показали певні статеві відмінності, вплив віку та інших факторів на характер ЛК-спектрів [2]. Це

свідчить про можливість зіставлення результатів ЛКС з даними біохімічних, гістохімічних, імунологічних та інших досліджень, які також мають біологічну ритмічність. Зіставлення ЛК-спектрів плазми крові тварин, у яких були відтворені різні патологічні процеси (стрес, токсичний гепатит, перитоніт), виявили чітку відмінність між ними (рис. 3). Суттєво змінювалось не тільки співвідношення груп часточок, які роблять певний внесок у світлорозсіювання, але й їх характер усередині кожної фракції. Таким чином, ЛКС-метрія є чутливим діагностичним критерієм, який дозволяє з великим ступенем достовірності диференціювати патологічні процеси за нозологіями. Низку цікавих фактів було встановлено при проведенні ЛКС-метрії плазми крові у тварин в стані стресу. Ця модель добре вивчена нами раніше за допомогою різнобічних традиційних методів [4], що дозволяє чітко верифікувати стадії розвитку та полегшує трактування результатів ЛКС-досліджень. Так, було встановлено, що на 2-у добу спостережень ЛК-спектри тварин, у яких розвився стрес, суттєво відрізнялись від ЛК-спектрів інтактних щурів (рис. 4). Крім того, характер спектра мав чітку динаміку на 3-тю та 4-ту добу спостережень, відповідно до відомих стадій стресу. Гістограми мали характерні відмінності за внесками у світлорозсіювання в низько- та середньомолекулярних фракціях. ЛК-спектр з нечітко бімодального (2-га доба) перетворився в тримодальний (3-тя доба), а потім знову в чіткий бімодальний (4-га доба). Проведені раніше біохімічні, цитоморфологічні та інші дослідження, спрямовані на вивчення стресу, викликаного депривацією сну, показали, що саме в цей проміжок часу розвивалися послідовно стадії реакції [5].

Характер зрушень ЛК-спектрів на певних стадіях стресу показує участь тих чи інших компонентів плазми (сироватки) у зміні інтегрального показника гомеостазу і дозволяє висунути нові робочі гіпотези, які пояснюють механізми порушень у системі гомеостазу та його сталість при стресі. Це припущення підтверджується пара-

лельно проведеними біохімічними дослідженнями. Так, у першу стадію стресу (адаптивну) наставало недостовірне підвищення вмісту АТФ та АДФ у сироватці з відповідним зниженням АМР. Ці показники в мітохондріях головного мозку мали таку ж саму спрямованість, а зміна їх була вже достовірною. Потім вивчені показники різко зменшувались, і в останню стадію стресу (виснаження) виявлялось таке. Вміст АТФ та АДФ у сироватці крові зменшувався відповідно на 53,5 та 69,9%, а вміст АМР підвищувався на 52,1%. У мітохондріях мозку вміст АТФ та АДФ знижувався на 73,0 і 63,3%, а вміст АМР – підвищувався на 134,0%. Різко змінювалось тканинне дихання та окислювальне фосфорилування. Вміст у мозку DP знижувався на 54,6%, а DO – на 22,0%, що призводило до роз'єднання окислювального фосфорилування (коефіцієнт P:O зменшувався з $1.91 \pm 0,033$ до $1.20 \pm 0,022$, $P < 0,001$).

У першу стадію розвитку стресу активність АТФаз мала тенденцію до наростання як у сироватці, так і в мозку. Між тим, у стадії виснаження активність Mg^{2+} -АТФ-ази в сироватці крові зменшувалась на 41,6%, а Na^+, K^+ -АТФ-ази – на 44,0%; у мозку відповідно – на 20,9% і 25,0%. Стрес суттєво впливав на структурно-молекулярну організацію мембран еритроцитів. На 89,5% знижувалась інтенсивність флуоресценції спеціальних зондів, що свідчило про виражене розрідження фосфоліпідного бішару мембран, і на 62,5% підвищувався коефіцієнт зв'язування зонда, на 78,6% збільшувалась кількість центрів зв'язування зонда з мембранами. Таким чином, за результатами ЛКС-метрії одержано дані про диференціювання стадій стресу, які повністю корелюють з даними традиційних методів дослідження. ЛКС-метрія є не тільки достовірним прогностичним критерієм, але й дозволяє оцінювати ефективність застосованої фармакотерапії.

Для оцінки фармакологічної активності та нешкідливості лікарських засобів принципове значення має вибір дози. На жаль, сьогодні вона вирішується суб'єктивно. Тому ми спробували

вивчити можливість ЛКС для вирішення цієї проблеми. Проведені дослідження показали, що одноразове введення середньотерапевтичною дозою денного транквілізатора метаболічної дії літоніту викликає несуттєві зміни ЛК-спектра плазми крові інтактних тварин (рис. 5). У той же час одноразове введення похідного бензодіазепіну феназепаму призводило до значних зрушень у співвідношенні різних фракцій у світлорозсіювання. Триразове збільшення дози препаратів призводило до таких змін у ЛК-спектрах щодо контролю. Літоніт викликав збільшення, в основному, відносного вмісту низькомолекулярних фракцій – з 13,11 до 20,01%, і високомолекулярних фракцій: в діапазоні 95–264 нм – з 4,73 до 16,83%, в діапазоні вище 265 нм – з 0,74 до 2,32%. На цьому тлі знижувався відносний вміст середньомолекулярної фракції – з 55,14 до 32,87%. Таким чином, трикратне збільшення дози літоніту приводило до трансформації ЛК-спектра в межах діапазону ЛК-спектрів інтактних тварин. Поряд з цим, феназепам при введенні утричі збільшеної середньотерапевтичної дози викликав суттєві зрушення у співвідношенні різних фракцій плазми порівняно з контролем. Зіставлення результатів ЛКС при вивченні впливу двох транквілізаторів літоніту і феназепаму показало таке. Вже через 1 год після одноразового введення середньотерапевтичної дози (10 мг/кг) літоніту вміст АТР і АDP у сироватці крові збільшувався на 61,0 і 39,0% відповідно, одночасно зменшувався вміст АМР на 44,6%, що корелювало з аналогічними за напрямком змінами в мозку: вміст АТР і АDP збільшувався на 43,0 і 94,0%, хоча АМР – не змінювалось. На відміну від літоніту, феназепам при введенні середньотерапевтичною дозою (2 мг/кг) у цей часовий проміжок викликав протилежну дію. Вміст АТР і АDP у сироватці крові зменшувався приблизно на 10,0% ($P < 0,05$), а АМР підвищувався на 42,0% ($P < 0,01$); у мозку достовірно зменшувався вміст АТР і АDP на 20,0%, а АМР збільшувався на 107,0%. Відповідно до змін вмісту аденілових нуклеотидів прохо-

дили процеси тканинного дихання та фосфорилування. Літоніт у мозку в тій же дозі при одноразовому введенні не змінював DP і DO, не порушував їх поєднання, а феназепам зменшував ці показники в межах 20,0%, що призводило до зменшення коефіцієнту $P:O$ з $1,89 \pm 0,031$ до $1,67 \pm 0,011$ ($P < 0,001$).

Літоніт при введенні середньотерапевтичною дозою підвищував активність Mg^{2+} -АТР-ази і Na^+, K^+ -АТР-ази приблизно на 50,0% і в сироватці крові і в головному мозку. Феназепам, навпаки, пригнічував активність вказаних АТР-аз у сироватці крові та мозку в середньому на 15,0–20,0%. Вивчення структурно-функціонального стану мембран еритроцитів за допомогою флуоресцентних зондів показало, що літоніт у тій же дозі не змінював інтенсивності флуоресценції, коефіцієнта зв'язування та кількості центрів зв'язування зонда з мембранами. На відміну від цього, феназепам суттєво знижував інтенсивність та кількість центрів зв'язування. Збільшення дози втричі ще дужче підсилювало вираженість описаних змін.

Таким чином, зіставлення біохімічних та біофізичних даних структурно-функціонального стану мембран з характером ЛК-спектрів після введення літоніту і феназепаму інтактним тваринам показало, що ЛКС крові адекватно відображає процеси в організмі, викликані вивченими лікарськими засобами. Різностямована дія середньотерапевтичних доз літоніту й феназепаму підтверджується класифікаційним аналізом порівнювальних груп (рис. 6А). Така ж закономірність зберігається при порівнянні груп тварин, яким у три рази збільшували дози цих препаратів (рис. 6Б). Чіткі відмінності спостерігались і при порівнянні груп тварин, яким вводили різні дози одного і того ж препарату.

Одержані результати, безумовно, поставили закономірні питання: як змінюються ЛК-спектри у динаміці розвитку стресу при застосуванні літоніту й феназепаму як стрес-протекторів? Дослідження показали, що протективна дія літоніту на ЛК-спектр крові починає проявлятися на 3-тю до-

Відносний внесок у світлорозсіювання часточок сироватки крові різного розміру за стадіями розвитку стресу

Інтервали коливання часточок за їх розміром (нм)	Контрольна група	Літоніт			Феназепам		
		2 доба	3 доба	4 доба	2 доба	3 доба	4 доба
2-11	10,52	31,67	25,01	29,54	32,89	32,58	30,27
		31,88	26,71	32,51	31,88	26,71	32,51
11-37	18,13	32,59	24,33	22,45	33,06	33,26	25,71
		30,39	30,19	31,17	30,39	30,19	31,17
37-95	40,59	13,60	21,52	20,20	11,54	14,97	22,48
		12,56	22,54	11,47	12,56	22,54	11,47
95-264	29,28	6,76	14,70	11,80	6,82	6,67	10,15
		8,74	8,05	9,17	8,74	8,05	9,17
264 та більше	1,48	15,38	14,44	16,01	15,70	12,52	11,39
		16,43	12,52	15,67	16,43	12,52	15,67

Примітка: в знаменнику результати ЛКС-метрії у тварин з відтвореним стресом без введення препаратів.

бу розвитку стресу і ще більше посилюється на 4-ту добу. При введенні феназепаму спостерігається лише тенденція нормалізації деяких фракцій на 4-ту добу дослідження (табл.) Паралельне вивчення традиційних показників виявило таке.

Курсове профілактичне введення літоніту середньотерапевтичною дозою, яка визначалась за поведінковими реакціями тварин, практично утримувало на вихідних величинах (порівняно з інтактними) вміст аденілових нуклеотидів у сироватці крові та головному мозку. Під впливом феназепаму намітилась тільки тенденція до збільшення вмісту макроергічних фосфатів, яка суттєво зменшувалась при стресі. На тлі введення літоніту зберігалось на вихідному рівні DP та DO в мозку, коефіцієнт P:O не відрізнявся від контролю. Феназепам не попереджував пригнічення стресом тканинного дихання та окислювального фосфорилування і їх роз'єднання. Літоніт попереджував також пригнічення стресом активності АТФаз у сироватці крові та в мозку, показники яких не відрізнялись від контролю. Феназепам не впливав суттєво на ці показники на тлі стресу. Літоніт при стресі вирівнював, однак не до вихідних величин, інтенсивність флуоресценції, а феназепам, навпаки, удвічі зменшував її навіть порівняно зі стресом. Під впливом літоніту коефіцієнт зв'язування зонда в 2 рази зменшу-

вався і практично вирівнювався з контрольними величинами, а феназепам на 15% збільшував коефіцієнт зв'язування зонда навіть порівняно зі стресом. Під впливом літоніту не змінювалась кількість центрів зв'язування порівняно зі стресом, а під впливом феназепаму підвищувалась більше, ніж у 2 рази, кількість центрів зв'язування по-

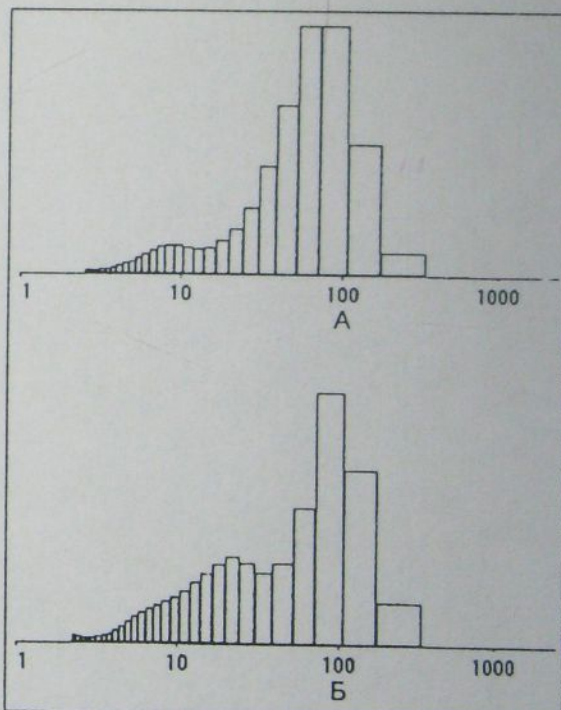


Рис. 1. Середній спектр функції і розподілення часточок за розмірами в групі інтактних щурів (А) та здорових людей (Б).

Примітка: В рис. 1, 3-5 – по горизонталі – гідродинамічні радіуси часточок, які беруть участь у світлорозсіюванні; по вертикалі – відносний внесок часточок у світлорозсіювання.

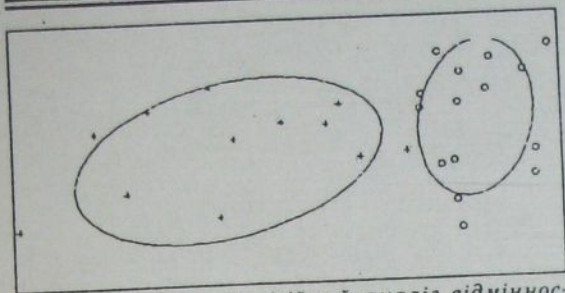


Рис. 2. Класифікаційний аналіз відмінностей ЛК-спектрів плазми крові інтактних щурів залежно від пори року:
o - весна,
+ - зима.

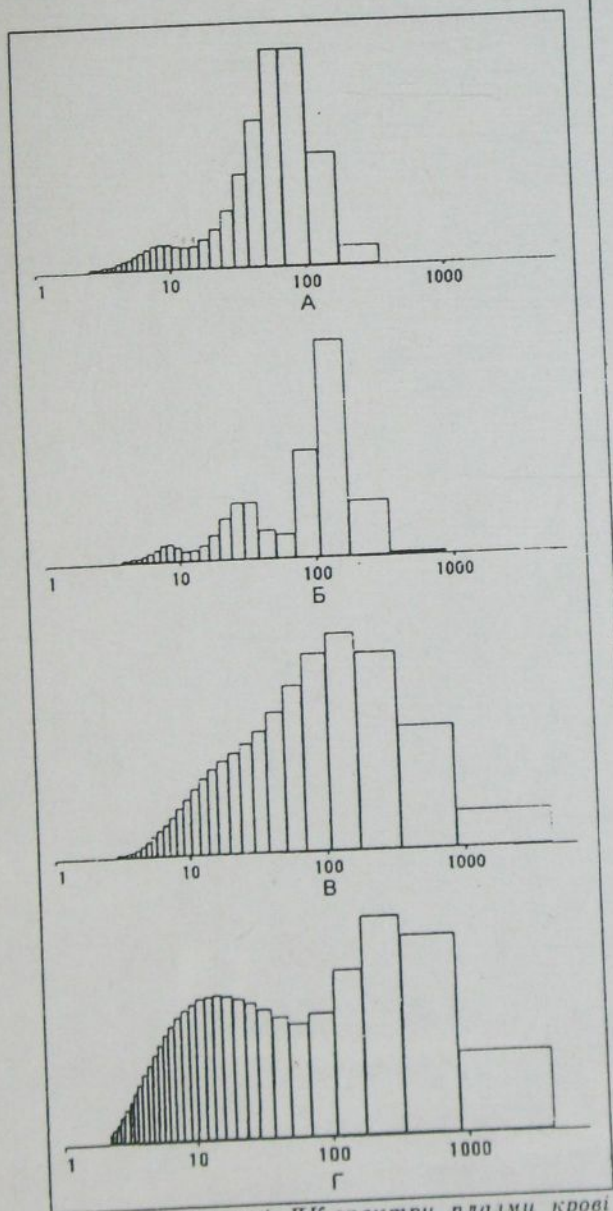


Рис. 3. Групові ЛК-спектри плазми крові щурів при моделюванні різних патологічних процесів:
А - інтактні, Б - перитоніт,
В - гепатит, Г - стрес.

рівняно зі стресом. Різноманітність механізмів дії літоніту і феназепаму в

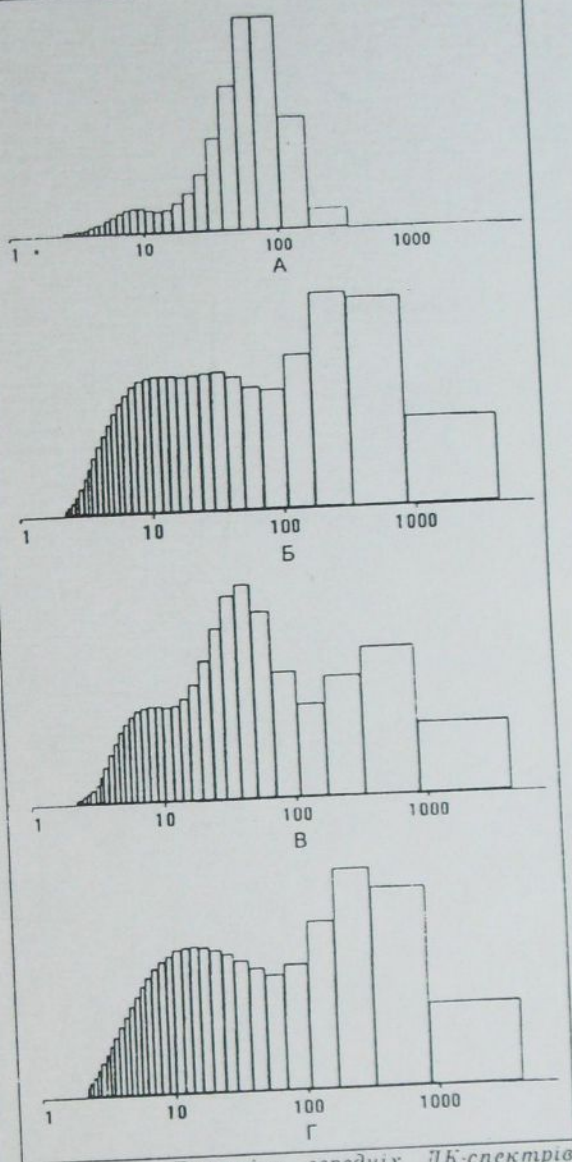


Рис. 4. Динаміка середніх ЛК-спектрів плазми крові щурів у різні строки розвитку стресу.

А - контроль, Б - 2 доба,
В - 3 доба, Г - 4 доба.

кінцевому результаті відображалась на їх стрес-протективному ефекті, в тому числі й на ступені вираженості нормалізації інтегрального показника гомеостазу, визначеного за методом ЛКС, що підтверджується класифікаційним аналізом групових спектрів (рис. 7).

Таким чином, результати досліджень показали, що ЛКС є чутливим методом оцінки інтегрального показника гомеостазу крові. Дані, одержані за допомогою ЛКС, повною мірою можна зіставляти з результатами інших традиційних методів. Спостерігаються чіткі розбіжності між індивідуальними і груповими спектрами інтактних тва-

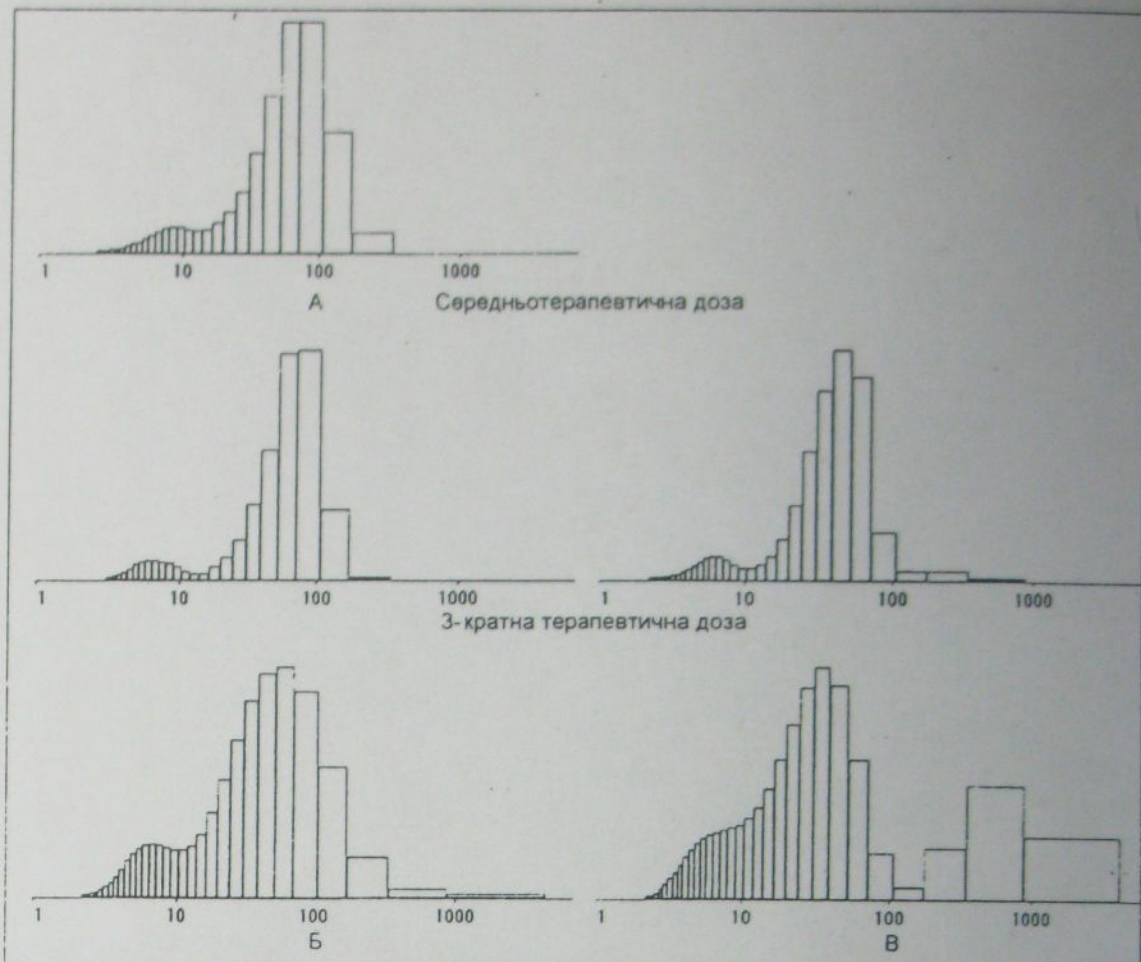


Рис. 5. Середні спектри плазми крові інтактних щурів, яким одноразово введені лікарські засоби.

- А - контрольна група (без препаратів);
- Б - група тварин, яким введено літоніт;
- В - група тварин, яким введено феназепам.

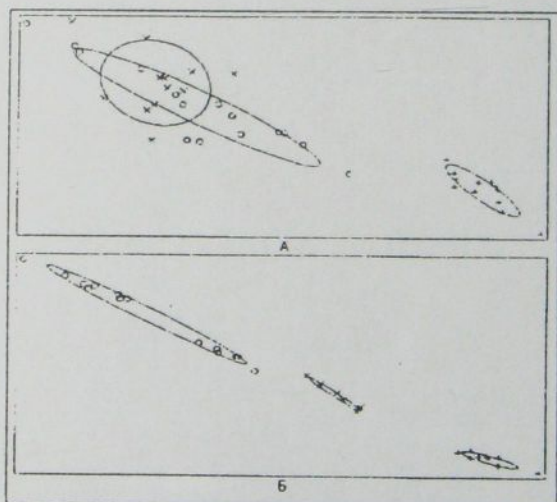


Рис. 6. Класифікаційна карта порівняння ЛК-спектрів тварин, яким вводили різні препарати.

- o - контрольна група; x - літоніт,
- + - феназепам.
- А - введення середньотерапевтичної дози,
- Б - введення потрійної середньотерапевтичної дози.

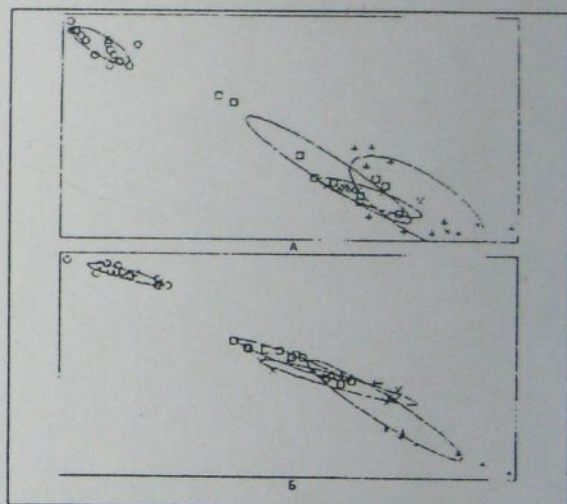


Рис. 7. Класифікаційна карта порівняння ЛК-спектрів груп щурів у різні стадії стресу на тлі введення феназепаму (А) і літоніту (Б).

- o - вихідний рівень, + - 2 доба,
- x - 3 доба, ? - 4 доба розвитку стресу.

рин і тварин, у яких моделювали патологічний процес. При цьому ЛК-спектри при різній патології мають свої характерні особливості. На прикладі стресу було показано, що кожній стадії розвитку патологічного процесу притаманна певна закономірність у співвідношенні різних часточок світлорозсіювання та їх відносному внеску до нього. Метод ЛКС дозволяє виявляти зміни гомеостазу плазми крові навіть при одноразовому введенні лікарських за-

собів. Зіставлення результатів ЛКС-метрії крові у інтактних тварин, яким вводили різні препарати, а також у тварин з відтвореною патологією, яким вводили ці ж препарати, з даними біохімічних та інших досліджень дозволяють зробити висновок, що ЛКС-метрія є чутливим методом в оцінці терапевтичної ефективності лікарських засобів і дає можливість розкривати невідомі механізми їх дії на організм.

1. Бажора Ю.І., Кресюн В.Й., Константинова А.А.//Клін. фармація.- 1998.- Т.2, № 1.- С. 9-13.
2. Молекулярно-генетические и биофизические методы исследования в медицине/Под ред. Ю.И.Бажоры, В.И.Кресюна, В.Н.Запорожана.- К.: Здоров'я, 1996.- 206 с.
3. Лазерная корреляционная спектроскопия крови: Метод. рекомендации/Бажора Ю.И., Соколовский В.С., Кресюн В.И. и др.- Одесса, 1995.- 20 с.
4. Кресюн В.И., Рожковский Я.В.//Патол. физиол.- 1993.- №1.- С. 5-6.
5. Kresyun V., Aryaev V. Tranquillizers and stress: Adaptive Action Mechanism.- Harwood Acad. Publ. GmbH., 1992.- V.2.- P. 1-49.

Надійшла до редакції 25.05.98

Ю.И.Бажора, В.И.Кресюн, Д.Ю.Андронов, В.В.Годован, Б.А.Волошенков, И.М.Шевченко, А.А.Константинова

Возможности лазерной корреляционной спектроскопии в фармакологических исследованиях

На примере нескольких моделей экспериментальной патологии у крыс показано, что метод лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) позволяет выявить характерные изменения в системе гомеостаза плазмы крови. Установлено, что уже при одноразовом введении литонита и феназепама отмечались определенные изменения интегрального показателя гомеостаза плазмы. Применение этих лекарственных средств в качестве стресс-протекторов приводило к уменьшению изменений в ЛК-спектрах крыс, подвергнутых стрессированию. Результаты ЛКС-метрии полностью коррелируют с данными традиционных биохимических исследований. Таким образом, метод ЛКС может быть использован для оценки тяжести патологического процесса и эффективности проводимой фармакотерапии.

Yu.I.Bazhora, V.I.Kresyun, D.Yu.Andronov, V.V.Godcvan, B.A.Voloshenkov, I.M.Shevchenko, A.A.Konstantinova

Possibilities of laser dopplerspectroscopy in pharmacological investigations

It's show on examples of several models of experimental pathology, that Laser Doppler spectroscopy (LDS) could be used for studying of characteristic changes in homeostasis system of blood plasma. The definite changes in general index of homeostasis have been noticed even after one-time litonite and phenazepam injections. Application of these drugs as stress-protectors leads to decreasing of changes in spectra of rats after stress. Results of spectroscopy correspond to the results obtained by traditional biochemical methods. We came to a conclusion about possibility of LDS application for estimation of pathological process degree and effectiveness of pharmacotherapy.