

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ`Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ЕКСПЕРТНИЙ ЦЕНТР МОЗ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Рік заснування – 1997

КЛІНІЧНА
ФАРМАЦІЯ



CLINICAL
PHARMACY



КЛИНИЧЕСКАЯ
ФАРМАЦІЯ

2014 – том 18, №4

Харків
НФаУ

Редакційна колегія:

О.Г.Башура, Н.В.Бездітко, Н.П.Безугла (*відповідальний секретар*), В.С.Бондар, М.Я.Головенко, І.С.Гриценко, Ю.І.Губський, Г.В.Дзяк, С.М.Дроговоз, А.Б.Зборовський (Россія), А.Б.Зіменковський, І.А.Зупанець (**головний редактор**), В.М.Коваленко, А.А.Котвіцька, О.М.Котенко (*директор видавництва*), В.Й.Кресюн, Л.М.Малоштан, В.Ф.Москаленко, Е.Л.Насонов (Россія), С.Б.Попов, І.М.Риженко, Т.С.Сахарова, А.М.Сердюк, О.І.Тихонов, Ю.І.Фещенко, І.С.Чекман, В.П.Черних (**головний науковий консультант**), Л.В.Яковлєва (**заступник головного редактора**)

Редакційна рада:

О.Я.Бабак, О.М.Біловол, Г.М.Войтенко, Ю.В.Вороненко, Н.О.Горчакова, О.І.Гриздуб, Л.О.Громов, І.Б.Демченко, Н.В.Дєдх, З.Д.Димитрова (Болгарія), Т.Г.Калинюк, М.О.Ляпунов, В.І.Мамчур, В.С.Мерцалов, Б.В.Михайлов, J.Mircheva (Belgium), М.А.Мохорт, С.В.Нальотов, Ю.С.Рудик, А.С.Свінціцький, В.О.Усенко, М.Hartmann (Germany), М.Б.Шегедин, М.І.Яблчанський, О.О.Яковлєва

У черговому номері журналу представлені матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Фармацевтична мікробіологія і клінічна лабораторна діагностика», яка відбулась 27-28 листопада 2014 р. на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету. Також висвітлені питання ролі інсулінорезистентності хворих із серцевою недостатністю зі збереженою систолічною функцією лівого шлуночка; наданий аналіз факторів кардіоваскулярного ризику та метаболічних показників у жінок з артеріальною гіпертензією. Надрукована оригінальна стаття з використання імітаційного моделювання для кількісного оцінювання ризиків, пов'язаних із реєстрацією даних у клінічному випробуванні. Наведені матеріали з доклінічних досліджень нових лікарських препаратів та біологічно активних речовин.

Для науковців, лікарів, провізорів, клінічних провізорів, організаторів системи охорони здоров'я.

Рекомендовано Вченою радою Національного фармацевтичного університету (протокол №2 від 30.10.2014 р.)

Журнал «Клінічна фармація» включений до затвердженого МОН України переліку наукових фахових видань України для опублікування результатів дисертаційних робіт з фармацевтичних та медичних наук (Наказом Міністерства освіти і науки України № 793 від 04.07.2014 р. поновлений в Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук)

Журнал «Клінічна фармація» входить у реферативну базу даних Національної бібліотеки України ім. В.І.Вернадського, Українського реферативного журналу «Джерело», Chemical Abstracts Service (USA), ВИНІТИ РАН та включений до наукометричної бази eLIBRARY.RU.

Клінічна фармакологія та фармакотерапія



УДК 616.155.392:616.34+576.8.06

ДОСВІД ВІДНОВЛЕННЯ КИШКОВОЇ МІКРОФЛОРИ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ ТА ХРОНІЧНУ МІЄЛОЇДНУ ЛЕЙКЕМІЮ

Л.М.Немировська, А.П.Рибальська

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

Ключові слова: хворі на гостру і хронічну мієлоїдну лейкемію; пробіотикотерапія; мікроекологія кишечника

THE EXPERIENCE OF INTESTINAL MICROFLORA RESTORATION IN PATIENT WITH ACUTE AND CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

L.M.Nemyrovskaya, A.P.Rybalska

SI "Institute of Haematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine"

Key words: AML and CML patients; opportunistic pathogenic bacteria; probiotic therapy; microecology of the intestine

The absence of disorders of the intestinal microecology enables to reduce the risk of infectious complications by preventing the translocation of opportunistic pathogenic bacteria in the biotopes of the upper respiratory tract and allows to conduct the courses of anticancer therapy in patients with leukemia of the myeloid origin. The aim of our research was to restore the microecology of the intestine in patients with acute (AML) and chronic (CML) myeloid leukemia. As result of monitoring of the intestinal microecology in 85.7% of patients with AML and in 70.4% with CML anaerobes of Bifidobacterium genus have not been found; bacteria of Lactobacillus genus have been isolated from the intestine of 57.1% of patients with CML and 71.4% with AML (in one third of the patients its quantity was lower than the physiological norm (10^3 - 10^7 CFU/g). After the course of probiotic therapy bifidobacteria were isolated from the biotope of all patients, lactobacteria – from the intestine of all CML patients and 83.3% of the patients with AML, in the second group the bacterial titres increased (from 10^3 - 10^8 CFU/g to 10^6 - 10^9 CFU/g). At first E. coli were isolated in low titres (10^1 - 10^3 CFU/g), and after termination – within the physiological norm (10^6 - 10^8 CFU/g). When conducting probiotic therapy the titres of opportunistic pathogenic bacteria did not increase or decreased by 10 times. Probiotic therapy allows to restore the normal microecology of the intestine, improve the physiological state and timely conduct the courses of polychemotherapy in AML and CML patients.

Мікрофлора кишечника людини відіграє важливу роль у підтримці системи гомеостазу, проте є вкрай чутливою до впливу внутрішніх чи зовнішніх факторів та має свої особливості у кожній віковій категорії [5].

Важливою фізіологічною основою нормоценозу вважають біфідо- і лактобактерії, головною функцією яких є підтримка колонізаційної резистентності біотопу [2, 5, 10]. У той же час специфічну функцію виконують й умовно патогенні бактерії (УПБ), оскільки у практично здоровій людини вони створюють антигенне навантаження, стимулюють механізм місцевого імунітету, що підтримує мобілізаційну готовність імунної системи до захисту організму від інфекції і забезпечує швидке та ефективне реагування на

втручання потенційних чинників інфекційних процесів [10].

У хворих на лейкемію мієлоїдного походження ризик розвитку інфекційних ускладнень підвищується зі зростанням кількості курсів цитостатичної терапії, коли слизові оболонки кишечника пошкоджуються [6, 9]. Внаслідок цього УПБ здатні мігрувати з товстого кишечника до ротової і носової порожнин та виступати етіологічним фактором гнійно-запальних процесів верхніх дихальних шляхів, органів сечостатевої системи тощо, тобто, аутофлора може стати чинником розвитку інфекційного процесу. Відновлення повноцінної мікробної екології біотопів є вкрай важливим фактором, насамперед, для покращення фізіологічного стану хворих, оскільки УПБ, що швидко розмножуються за відсутності протидії

представників нормофлори, синтезують значні кількості токсичних речовин (індол, скатол, сірководень, аміак тощо) та збільшують навантаження на печінку, сприяють зниженню її кліренсної функції і розвитку інтоксикації організму [12]. З іншого боку, нормальна мікроекологія біотопів є запорукою уникнення інфекційно-запальних ускладнень (ІЗУ) та покращення процесу лікування основного захворювання.

Для нормалізації мікроекології біотопів використовують бактеріотерапевтичні препарати – пробіотики. У той же час слід враховувати, що пробіотикотерапія є методом штучного заселення біотопів людини специфічною мікрофлорою та розглядається як замісна бактеріотерапія. Однак ступінь приживання і тривалість функціонування кожного пробіотичного штаму залежить як від біологічних властивостей пробіотичного штаму, наявності рецепто-

Таблиця 1

Мікрофлора кишечника хворих на гостру мієлоїдну лейкемію у динаміці курсу пробіотикотерапії, n=21

Мікроорганізми, роди, види	Фізіологічна норма, КУО/г	Титр мікроорганізмів (КУО/г); кількість хворих (%)			
		на початку		після закінчення	
		КУО/г	%	КУО/г	%
<i>Escherichia coli</i>	10^6 - 10^8	10^1 - 10^3	80,9	10^6 - 10^8	83,3
УПБ*	$\leq 10^4$	10^7 - 10^8	28,6**	10^6 - 10^7	33,3***
<i>Bifidobacterium sp.</i>	$\geq 10^8$	10^7 - 10^8	14,3	10^7 - 10^9	100,0
<i>Lactobacillus sp.</i>	$\geq 10^8$	10^3 - 10^8	71,4	10^6 - 10^9	83,3
<i>Enterococcus sp.</i>	10^6 - 10^8	10^5 - 10^9	95,2	10^7 - 10^9	100,0
<i>Candida sp.</i>	$\leq 10^4$	10^1 - 10^6	61,9	10^4 - 10^6	50,0

Примітка. * УПБ – умовно патогенні бактерії; ** *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* ($>10^4$ КУО/г); *** *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ($\leq 10^4$ КУО/г).

рив адгезії, так і від індивідуальних фізіологічних особливостей організму конкретної людини, специфіки місцевого імунітету тощо. Існує думка, що екзогенні мікроорганізми не здатні тривалий час персистувати у травному тракті, а ефект пробіотикотерапії дає змогу відновити індигенну аутофлору, хоча є експериментальні свідчення про здатність окремих специфічних мікроорганізмів тривало існувати у кишечнику і виконувати функції одного з компонентів нормофлори [12].

За попередніми дослідженнями нами було проведено моніторинг стану мікроекології кишечника у динаміці хіміотерапії хворих на лейкемію, за яким встановлено наявність дисбіотичних порушень мікроекології біотопу [9].

Актуальність проблеми нормалізації мікрофлори у хворих на лейкемію мієлоїдного походження ґрунтується на тому, що ушкодження слизових оболонок, транслокація невласливих мікроорганізмів до біотопів верхніх дихальних шляхів підвищують рівень ризику виникнення ІЗУ різної локалізації, що погіршує процес лікування основного захворювання, оскільки розвиток ІЗУ не дає змоги вчасно та адекватно провести курси протипухлинної терапії.

Метою дослідження було вивчення впливу пробіотичного препарату щодо відновлення мікроекології кишечника у хворих на гостру (ГМЛ) і хронічну (ХМЛ) мієлоїдну лейкемію.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження стали 21 хворий на ГМЛ та 8 пацієнтів з ХМЛ із дисбіотичними порушеннями мікрофлори кишечника, яким за згодою до курсу лікування було включено вітчизняний пробіотик, що містить лактобактерії і біфідобактерії (доза та схема застосування відповідно до вимог виробника). Стан мікрофлори визначали на початку пробіотикотерапії та за чотири тижні потім класичними мікробіологічними методами згідно з рекомендаціями [1]. Родову і видову ідентифікацію ізолюваних культур мікроорганізмів здійснювали за визначником бактерій [8].

Результати та їх обговорення

За результатами моніторингу у хворих обох груп встановлені аналогічні мікроекологічні порушення: переважним негативним фактором була недостатність анаеробної ланки популяції, проте більш поглиблені зміни виявлені у хворих на

ГМЛ. Так, мікроорганізми роду *Bifidobacterium* (10^7 - 10^8 КУО/г) ізолювали тільки у 14,3% хворих на ГМЛ та у третини (29,6%) пацієнтів з ХМЛ; факультативно-анаеробні бактерії роду *Lactobacillus*, відповідно, у 71,4% та 57,1% пацієнтів. У третини всіх хворих кількість цих мікроорганізмів була нижче за фізіологічну норму (від 10^7 КУО/г до 10^3 КУО/г). Умовно патогенні бактерії у кишечнику хворих обох груп були представлені видами *Klebsiella pneumoniae*, їх чисельність перевищувала нормативні межі у хворих на ГМЛ (10^7 - 10^8 КУО/г), проте була значно нижчою у хворих на ХМЛ (10^2 - 10^3 КУО/г). У поодиноких випадках ізолювали *Proteus vulgaris*, *P. morganii*, *Enterobacter liquefaciens*, *Staphylococcus aureus* ($\leq 10^4$ КУО/г). Спектр УПБ у хворих на ГМЛ був більш різноманітним. Дріжджі роду *Candida*, титр яких перевищував фізіологічні норми ($\geq 10^4$ КУО/г), також частіше ізолювали з кишечника хворих на ГМЛ (табл. 1, 2). За нашими спостереженнями саме недостатність або відсутність представників біфідо- і лактобактерій та наявність УПБ, дріжджоподібних грибів, особливо у межах, що перевищують фізіологічні норми, спричиняє підвищення вірогідності ІЗУ на фоні хіміотерапії.

Таблиця 2

**Мікрофлора кишечника хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію
у динаміці курсу пробіотикотерапії, n=8**

Мікроорганізми, роди, види	Фізіологічна норма, КУО/г	На початку		Після закінчення	
		титр мікроорганізмів (КУО/г); кількість хворих (%)			
		КУО/г	%	КУО/г	%
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶ -10 ⁸	10 ⁸ -10 ⁹	71,4	10 ⁷ -10 ⁸	100,0
УПБ*	≤10 ⁴	10 ² -10 ³	29,6**	10 ¹ -10 ²	50,0**
<i>Bifidobacterium sp.</i>	≥10 ⁸	10 ⁷ -10 ⁸	29,6	10 ⁸ -10 ⁹	100,0
<i>Lactobacillus sp.</i>	≥10 ⁸	10 ⁷ -10 ⁸	57,1	10 ⁸	100,0
<i>Enterococcus sp.</i>	10 ⁶ -10 ⁸	10 ⁸ -10 ⁹	100,0	10 ⁸	100,0
<i>Candida sp.</i>	≤10 ⁴	10 ⁵ -10 ⁶	42,9	10 ⁴ -10 ⁵	50,0

Примітка. * УПБ – умовно патогенні бактерії: ** *Proteus morgani*, *Enterobacter liquefaciens*.

Включення до курсу протипухлинної терапії хворих вітчизняного пробіотичного препарату, що містить біфідо- і лактобактерії, за відповідними дозами впродовж 4 тижнів надало позитивну динаміку процесу відновлення мікрофлори кишечника за рахунок нормалізації кількісного складу біфідо- і лактобактерій. Це сприятливий фактор, оскільки вважається, що саме біфідо- і лактобактерії як визнані фізіологічні компоненти кишечного нормоценозу здатні підвищувати фагоцитарні властивості макрофагів, ініціювати продукцію інтерлейкінів, інтерферону тощо, що свідчить про їх позитивний вплив на показники неспецифічної імунорезистентності за рахунок стимуляції різних ланок клітинного і гуморального імунітету [4]. За результатом дослідження після закінчення пробіотикотерапії біфідобактерії ізолювали з кишечника 100% хворих на ГМЛ (проти 14,3% – на початку). Кількість осіб, з біотопу яких виділяли лактобактерії, збільшилась незначною мірою (від 71,4% до 83,3%), однак бактеріальні титри підвищилися (від 10³-10⁸ КУО/г до 10⁶-10⁹ КУО/г). До меж фізіологічної норми (10⁶-10⁸ КУО/г) відновилася чисельність кишкової палички – аероб-

ного представника популяції; з 61,1% до 50,0% зменшилась кількість хворих, з кишечника яких виділяли дріжджоподібні гриби роду *Candida* (табл. 1).

У групі хворих на ХМЛ також відбулися позитивні мікроекологічні зміни: кількість пацієнтів з наявністю біфідобактерій та лактобактерій зросла, відповідно, з 29,6% і 57,1% на початку до 100,0% осіб. У всіх пацієнтів відновилася фізіологічна кількість кишкової палички. Проте слід відзначити негативну динаміку щодо чисельності УПБ та дріжджів роду *Candida* (табл. 2). Ентерококи були присутні у популяції всіх хворих у відповідних титрах як на початку, так і після закінчення дослідження. Існує думка, що роль ентерококів у розвитку інфекційно-запальних процесів залишається недооціненою, оскільки ці мікроорганізми мають високу швидкість росту і легко набувають множинної лікарської резистентності [3, 7]. У хворих на лейкемію ентерококи також становлять певну загрозу щодо ризику ІЗУ, зокрема, нерідко спричиняють пневмонію ентерокової етіології [11].

Таким чином, визначення мікроекологічних порушень у мікрофлорі кишечника та їх корекція є важливою складовою

профілактичних заходів запобігання інфекційно-запальних ускладнень у хворих на лейкемію.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на лейкемію мієлоїдного походження реєструються зміни у мікрофлорі кишечника, пов'язані з відсутністю анаеробних мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* у 85,7% хворих на ГМЛ та 70,4% хворих на ХМЛ, зниженням кількості факультативних анаеробів роду *Lactobacillus* та аеробного представника популяції – кишкової палички.

2. Включення до схеми протипухлинної терапії хворих на ГМЛ і ХМЛ пробіотика, який містить представників нормофлори, що опосередковано впливають і на показники імунітету, дає позитивні результати щодо відновлення аеробної і анаеробної ланок популяції кишечника, покращення фізіологічного стану, своєчасного проведення курсів ПХТ, що у цілому має сприяти поліпшенню лікувального процесу та запобіганню ІЗУ.

Дослідження проведено у межах НДР на базі відділення захворювань системи крові ДУ «ІГТ НАМНУ» (завідувач – професор Н.М.Третяк, лікар-гематолог – к.м.н. О.В.Басова).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бактериологическое исследование кала на дисбактериоз: Метод. рекоменд.* – 1998. – 12 с.
2. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. // *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* – 2010. – №1. – С. 92-100.

3. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Спирина Т.С., Преображенская Т.Б. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2007. – №4. – С. 50-53.
4. Зорина В.В., Николаева Т.Н., Шаповалова О.В. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2006. – №6. – С. 40-44.
5. Катаева Л.В., Степанова К.Б., Степанова Т.Ф. и др. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2010. – №1. – С. 76-80.
6. Клясова Г.А., Сперанская Л.Л., Миронова А.В. и др. // Гематол. и трансфузиол. – 2007. – Т. 52, №1. – С. 11-18.
7. Макушенко А.С. // Лабораторная диагностика. – 2002. – №3. – С. 43-45.
8. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж.Хоулта. – М.: Мир, 1997. – 800 с.
9. Рибальська А.П., Немировська Л.М., Скачкова Н.К. та ін. // Укр. журн. гематол. та трансфузіол. – 2003. – №3. – С. 28-32.
10. Савицкая И.С., Бондаренко В.М. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2008. – №3. – С. 53-58.
11. Третьяк Н.М., Рибальська А.П., Басова О.В. та ін. // Укр. журн. гематол. та трансфузіол. – 2009. – №4. – С. 39-43.
12. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. – К.: Эксперт ЛТД, 2005. – 361 с.

ДОСВІД ВІДНОВЛЕННЯ КИШКОВОЇ МІКРОФЛОРИ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ ТА ХРОНІЧНУ МІЄЛОЇДНУ ЛЕЙКЕМІЮ

Л.М.Немировська, А.П.Рибальська

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

Ключові слова: хворі на гостру і хронічну мієлоїдну лейкемію; пробіотикотерапія; мікроекологія кишечника

Відсутність порушень мікроекології кишечника сприяє зниженню ризику інфекційно-запальних ускладнень за рахунок запобігання транслокації умовно патогенних бактерій (УПБ) до біотопів верхніх дихальних шляхів та дозволяє вчасно провести курси протипухлинної терапії у хворих на лейкемію мієлоїдного походження. Мета дослідження полягала у відновленні мікроекології кишечника у хворих на гостру (ГМЛ) і хронічну (ХМЛ) мієлоїдну лейкемію. За моніторингом мікроекології кишечника у 85,7% хворих на ГМЛ і 70,4% на ХМЛ не виявлені анаероби роду *Bifidobacterium*; бактерії роду *Lactobacillus* ізолювали з кишечника 57,1% хворих на ХМЛ і 71,4% хворих на ГМЛ (у третини хворих їх кількість була нижче за фізіологічну норму (10^3 - 10^7 КУО/г)). Після курсу пробіотикотерапії біфідобактерії ізолювали з біотопу хворих обох груп, лактобактерії з кишечника всіх хворих на ХМЛ і 83,3% пацієнтів з ГМЛ, в останніх бактеріальні титри підвищилися (з 10^3 - 10^8 КУО/г до 10^6 - 10^9 КУО/г). Кишкову паличку на початку ізолювали у низьких титрах (10^1 - 10^3 КУО/г), після закінчення терміну – у межах фізіологічної норми (10^6 - 10^8 КУО/г). Протягом проведення пробіотикотерапії титри УПБ не підвищувалися або знижувалися у 10 разів. Пробіотикотерапія дає змогу відновити нормальну мікроекологію кишечника, покращити фізіологічний стан, якість життя та своєчасно проводити курси поліхіміотерапії у хворих на ГМЛ і ХМЛ.

ОПЫТ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ У БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИЕЙ

Л.Н.Немировская, А.П.Рыбальская

ГУ «Институт гематологии и трансфузиологии НАМН Украины»

Ключевые слова: больные острой и хронической миелоидной лейкемией; условно патогенные бактерии; пробиотикотерапия; микроэкология кишечника

Отсутствие нарушений микроэкологии кишечника дает возможность снизить риск инфекционных осложнений за счет предотвращения транслокации условно патогенных бактерий (УПБ) в биотопы верхних дыхательных путей и позволяет своевременно провести курсы противоопухолевой терапии у больных лейкемией миелоидного происхождения. Цель исследования восстановить микроэкологию кишечника у больных острой (ОМЛ) и хронической (ХМЛ) миелоидной лейкемией. В результате мониторинга микроэкологии кишечника у 85,7% больных ОМЛ и 70,4% ХМЛ не выявлены анаэробы рода *Bifidobacterium*; бактерии рода *Lactobacillus* выделяли из кишечника 57,1% больных ХМЛ и 71,4% больных ОМЛ (у трети больных их количество было ниже физиологической нормы (10^3 - 10^7 КОЕ/г)). После курса пробиотикотерапии бифидобактерии выделяли из биотопа больных обеих групп, лактобактерии – из кишечника всех больных ХМЛ и 83,3 % пациентов с ОМЛ, у последних бактериальные титры повысились (от 10^3 - 10^8 КОЕ/г до 10^6 - 10^9 КОЕ/г). Кишечную палочку сначала изолировали в низких титрах (10^1 - 10^3 КОЕ/г), после окончания срока – в пределах физиологической нормы (10^6 - 10^8 КОЕ/г). При проведении пробиотикотерапии титры УПБ не увеличивались либо снижались в 10 раз. Пробиотикотерапия дает возможность восстановить нормальную микроэкологию кишечника, улучшить физиологическое состояние и своевременно проводить курсы полихимиотерапии у больных ОМЛ и ХМЛ.

Адреса для листування:

04060, м. Київ, вул. Максима Берлінського, 12.

Тел. (44) 440-44-79. E-mail: igtmicrob@ukr.net.

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

Надійшла до редакції 06.10.2014 р.

УДК 615.28:616-036.5

МІКРОБІОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ АНТИСЕПТИКІВ, АНТИМІКРОБНИХ МАТЕРІАЛІВ

О.А.Назарчук, В.Г.Палій, О.О.Гончар, Д.П.Олійник, Г.Г.Назарчук, І.Г.Палій

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Ключові слова: антисептики; декасан; мірамістин; хлорогексидин; пов'язки; гнійно-запальні процеси

THE MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF MODERN ANTISEPTICS AND ANTIMICROBIAL MATERIALS

O.A.Nazarchuk, V.G.Paliy, O.O.Gonchar, D.P.Oliynyk, G.G.Nazarchuk, I.G.Paliy

National Pirogov Memorial Medical University

Key words: antiseptics; decasan®; miramistin; chlorhexidine; dressings; pyo-inflammatory processes

Effectiveness of antiseptics decasan® (DC), chlorhexidine digluconate (CH), miramistin (MR), antimicrobial composition of decamethoxin (AMC, patent N 74853, Ukraine), antimicrobial dressings against isolated strains of *S. aureus* (n 32), *E. coli* (n 25), *P. aeruginosa* (n 20), *C. albicans* (n 16) in patients with diabetes having pyo-inflammatory complications has been researched. The antimicrobial properties of antiseptics have been studied by means of the serial dilutions method. The antimicrobial activity of dressings (1.0x1.0 cm), such as medical cotton impregnated with AMC; antiseptic overlay with CH (AOCH); Traumastem Biodress Disinfect® (TBD); activtex CH®, activtex CHF®, against clinical isolates of microorganisms has been studied on solid media. The bactericidal action against *S. aureus* in the presence of AMC (1.4±0.2 мкг/ml), DC (1.73±0.2 мкг/ml); CH (12.8±2.1 мкг/ml); MR (8.3±0.9 мкг/ml) has been found. The bactericidal properties of DC and MR in relation to *E. coli* in their concentrations of 6.68±0.71 and 17.9±1.9 мкг/ml, respectively, have been determined. AMC (4.9±0.5 мкг/ml) was six times more active than CH (p<0.001). The antipseudomonal action of DC against *P. aeruginosa* was 1.5 times higher than CH. AMC had also 2.8 times higher activity (p<0.001). The bactericidal action of MR was registered in the presence of 72.9±2.2 мкг/ml. It has been found that *C. albicans* is sensitive to AMC (7.4±1.9 мкг/ml), DC (14.6±1.9 мкг/ml), MR (26.0±3.6 мкг/ml). CH has a low effectiveness in relation to *C. albicans* (32.8±7.4 мкг/ml). Advantages of the antimicrobial activity of modern antimicrobial dressings with AMC against *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, fungi of *Candida* genus have been found.

Інфекційні ускладнення у структурі хірургічних захворювань посідають провідне місце і становлять 35-45% хірургічних захворювань. Особливу увагу привертають гнійно-некротичні процеси у хворих на цукровий діабет (ЦД) з синдромом діабетичної стопи (СДС). Відповідно до Міжнародної угоди з проблем діабетичної стопи СДС визначили як інфекцію, виразку і/або деструкцію глибоких тканин, пов'язану з неврологічними порушеннями, зниженням магістрального кровотоку в артеріях нижніх кінцівок різного ступеня тяжкості. Незважаючи на значний прогрес у вивченні етіології і патогенезу гнійно-запальної патології при СДС, появу великого числа консервативних і хірургічних методів лікування, проблема профілактики, лікування інфекційних усклад-

нень продовжує залишатися актуальною та потребує пошуку нових методів антимікробної терапії [2, 6].

Аналіз клінічних особливостей гнійно-некротичних процесів при ЦД показав, що інфекція ран стопи у хворих на діабет носить полімікробний асоціативний характер. Відомо, що *S. aureus*, як правило, контамінує рану при СДС. У випадку хронічних гнійно-запальних процесів у ранах виявляють мікроорганізми роду *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Proteus spp.*), неферментуючі грамнегативні бактерії (*P. aeruginosa* *Acinetobacter spp.*) та ін. Тривала антимікробна терапія гнійно-некротичних процесів призводить до рецидивуючої або суперінфекції. Крім того, антибіотики при СДС погано проникають у тканини, а їх низькі концентрації в рані сприяють се-

лекції стійких варіантів умовно-патогенних бактерій [1].

З появою значної кількості полірезистентних до антибіотиків штамів мікроорганізмів змінюються погляди на роль антибіотиків, антисептиків у лікуванні гнійних ран у пацієнтів з СДС, проводиться пошук нових антисептичних препаратів та вдосконалення способів застосування відомих засобів. Перспективним вважають впровадження місцевої профілактики, лікування інфекції ран стопи діабетиків за допомогою сучасних антисептиків, перев'язувальних матеріалів [4, 6].

Метою роботи була оцінка ефективності сучасних антисептиків, антимікробних перев'язувальних матеріалів у хворих з СДС та гнійно-запальними ускладненнями ран.

Матеріали та методи

Під час дослідження виділяли клінічні штами мікроорганізмів

Таблиця 1

Чутливість клінічних штамів мікроорганізмів до антисептичних препаратів

Антисептичні препарати	Мікроорганізми (n)			
	<i>S. aureus</i> (n 32)	<i>E. coli</i> (n 25)	<i>P. aeruginosa</i> (n 20)	<i>C. albicans</i> (n 16)
	МБцК*, МФцК** мкг/мл (M ± m)			
Антимікробна композиція	1,4±0,2	4,9±0,5	39,06±4,1	7,4±1,9
Декасан	1,73±0,2	6,68±0,71	79,2±7,4	14,6±1,9
p***	>0,05	>0,05	<0,001	<0,01
Хлорогексидину біглюконат	12,8±2,1	24,1±3,2	109,3±8,2	32,8±7,4
p***	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01
Мірамістин	8,3±0,9	17,9±1,9	72,9±2,2	26,0±3,6
p***	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примітка. * МБцК – мінімальна бактерицидна концентрація; ** МФцК – мінімальна фунгіцидна концентрація;

*** p – порівняно з АМК.

мів (*S. aureus* (n 32), *E. coli* (n 25), *P. aeruginosa* (n 20), *C. albicans* (n 16) від хворих на ЦД з гнійно-запальними ускладненнями СДС. Досліджували антимікробні властивості антисептиків декасану (ДС), хлорогексидину біглюконату (ХГ), мірамістину (МР) та антимікробної композиції декаметоксину (АМК) щодо виділених госпітальних штамів мікроорганізмів стандартним методом серійних двократних розведень [5]. Визначали мінімальні бактеріостатичну (МБсК) та бактерицидну (МБцК) концентрації антисептиків [3].

Проводили дослідження антимікробних властивостей медичної бавовни (медична бязь), імпрегнованої АМК; перев'язувальних матеріалів: серветки антисептичної з хлорогексидином (САХ); Traumastem Biodress Disinfect® (ТВД; Чеська Республіка, Компанія Апрена); активтекс® Х (Російська Федерація, «Альтекс Плюс ООО, Наша Родина»); активтекс® ХФ, що містить ХГ і фурагін (Російська Федерація, «Альтекс Плюс ООО, Наша Родина»). Антимікробну активність зразків перев'язувальних матеріалів (1,0x1,0 см) вивчали на щільних поживних середовищах, засіяних клінічними штамми *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*. Антимікробну дію оцінювали за відсутності росту мікроорганізмів

під зразком та зоною затримки росту бактерій навколо шматочків тканини (в мм) через 24 год інкубації в термостаті (Т 37°C).

Результати та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено високу чутливість до антисептиків у клінічних штамів мікроорганізмів, виділених від хворих з СДС, ускладнених гнійно-запальними процесами. Високу антимікробну активність встановили у АМК щодо клінічних штамів *S. aureus*, яка була вищою за антисептичну дію мірамістину майже в 6 разів. Бактерицидні властивості вказана композиція проявляла в концентрації 1,4±0,22 мкг/мл. Потужними протистафілококовими властивостями володів декасан. Клінічні штамми *S. aureus* були чутливими в присутності МБцК до 1,51±0,14 мкг/мл препарату. У ХГ встановили низькі антимікробні властивості щодо *S. aureus*, які поступались антимікробній композиції декаметоксину та ДС в 9 і 7 разів відповідно (табл. 1, p<0,001).

Неоднозначною була чутливість до антисептиків у клінічних штамів грамнегативних мікроорганізмів, які контамінували гнійні рани хворих з СДС. Доведені високі антимікробні властивості АМК, декасану щодо

E. coli. Так, АМК проявляла бактерицидну дію на *E. coli* в дозі 4,98±0,5 мкг/мл. Декасан був ефективним щодо *E. coli* в присутності МБцК 6,68±0,71 мкг/мл. Госпітальні ізоляти *E. coli* виявили в 4 рази меншу чутливість до ХГ, ніж при застосуванні декасану. В порівнянні ХГ антимікробна композиція була в 6 разів активнішою щодо *E. coli* (p<0,001). Встановлено, що мірамістин проявляв антисептичну дію на *E. coli* в присутності 17,98±1,87 мкг/мл препарату. Така антимікробна активність МР була меншою в 3 рази в порівнянні з антимікробними властивостями декасану та АМК щодо кишкової палички (табл. 1, p<0,001).

Встановлено, що госпітальні штамми *P. aeruginosa* на відміну від стафілококів і ентеробактерій були суттєво витривалішими до дії антисептиків. Найменшу активність у відношенні штамів *P. aeruginosa* встановили у ХГ. Бактерицидні концентрації препарату щодо синьогнійної палички досягали 109,34±8,16 мкг/мл антисептика. Антимікробний ефект декасану був у 1,5 рази вищим (МБцК 79,2±7,4 мкг/мл), а антимікробна композиція декаметоксину забезпечувала в 2,8 рази вищу антипсевдомонадну дію, ніж ХГ (p<0,001). МР проявляв антимікробні властивості щодо *P. aeruginosa* в присутності бак-

Таблиця 2

Антимікробна активність перев'язувальних матеріалів щодо клінічних штамів мікроорганізмів, виділених від хворих з синдромом діабетичної стопи

Антимікробні перев'язувальні матеріали	Зона затримки росту, мм (M±m)			
	<i>S. aureus</i> (n 32)	<i>E. coli</i> (n 25)	<i>P. aeruginosa</i> (n 20)	<i>C. albicans</i> (n 16)
Медична бавовна з АМК	32,4±0,5	26,4±0,3	20,8±0,34	32,0±0,8
Серветка антисептична з хлорогексидином	19,4±0,2	14,4±0,2	11,2±0,2	15,0±0,2
Traumastem Biodress Disinfect®	19,0±0,3	14,6±0,2	10,8±0,2	14,5±0,3
Активтекс® Х	21,2±0,4	15,6±0,2	15,6±0,2	14,3±0,4
Активтекс® ХФ	22,0±0,3	20,20±0,2	19,2±0,2	15,0±0,4

терицидних концентрацій 72,9±±2,2 мкг/мл.

За даними проведеного мікробіологічного дослідження декасан та АМК можна вважати ефективними щодо збудників інфекційних ускладнень на стопі діабетиків, спричинених дріжджоподібними грибами роду *Candida*. Встановлено, що клінічні штами *C. albicans* були високочутливими до АМК (7,4±±1,9 мкг/мл). Фунгіцидну дію лікарського препарату декасану на *C. albicans* визначали в присутності 14,6±1,9 мкг/мл); чутливість кандид до мірамістину виявляли при МБЦК 26,04±±3,6 мкг/мл; менш активним щодо *C. albicans* був ХГ (МБЦК 32,81±7,42 мкг/мл).

Для профілактики і лікування інфекційних ускладнень при СДС широко застосовують перев'язувальні та інші медичні матеріали, які містять антисептики. З цих позицій цікаво було вивчити *in vitro*, як сучасні антимікробні матеріали забезпечують достатню антимікробну ефективність щодо потенційних збудників гнійно-запальних процесів у хворих з СДС. Стати-

стично достовірно встановлено найвищу активність у медичної бавовни, імпрегнованої АМК (35 мм, табл. 2).

Зони затримки росту тест-штамів *S. aureus* навколо антимікробних перев'язувальних засобів активтекс® Х; САХ; TBD не перевищували 21,2±0,4 мм. Перев'язувальні матеріали активтекс® ХФ, які містили ХГ та антимікробний препарат фурагін, затримували ріст *S. aureus* в межах 22 мм.

Визначили переваги антимікробної активності медичної бязі з АМК (зони затримки росту 26,40±0,32 мм) в порівнянні з антимікробними матеріалами, які містили ХГ щодо *E. coli*. Активтекс® ХФ забезпечував затримку росту *E. coli* до 20,20±0,20 мм.

Встановлено, що медична бязь, імпрегнована АМК, мала високу антимікробну активність щодо *P. aeruginosa* в усіх досліджуваних випадках (зони затримки росту 21,80±0,20 мм). Антимікробні властивості щодо *P. aeruginosa* статистично достовірно були меншими у матеріалів на основі хлорогексидину (p<0,05). Перев'язувальні

засоби САХ, TBD, активтекс® Х були малоактивними відносно досліджуваних штамів *P. aeruginosa*. Зони затримки росту навколо зразків вказаних матеріалів не перевищували 10,80±±0,20 мм. Вищу антипсевдомонадну активність забезпечував активтекс® ХФ. Зона затримки росту *P. aeruginosa* складала близько 16,2±0,2 мм.

ВИСНОВКИ

1. Антисептичні лікарські препарати декасан та антимікробна композиція декаметоксину володіють високими антимікробними властивостями до збудників гнійно-запальних процесів (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*). Досить високу антимікробну активність щодо мікроорганізмів, які спричиняють інфекційні ускладнення при СДС, виявлено у мірамістину, який поступається за антисептичною дією декасану, АМК (p<0,05). ХГ проявляє слабкі антипсевдомонадні властивості (p<0,001).

2. Доведені переваги антимікробної дії на *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* у сучасних перев'язувальних матеріалах, імпрегнованих декаметоксином.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под ред. И.И.Дедова, М.В.Шестаковой. – М., 2009. – 101 с.
2. Международное соглашение по диабетической стопе. Составлено Международной рабочей группой по диабетической стопе. – М.: Берег, 2000. – 96 с.
3. Некрасова Л.С., Свита В.М., Глушкевич Т.Г. та ін. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: Метод. вказівки МВ 9.9.5 – 143. – К., 2007. – 74 с.
4. Палій Г.К., Когет Т.О., Палій В.Г. та ін. Антисептики в профілактиці і лікуванні інфекцій. – К.: Здоров'я, 1997. – 201 с.

5. Пат. №74853 Україна МПК А 61 L 15/12 (2006.01) Композиція для надання медичним текстильним матеріалам антимікробних властивостей з пролонгованою дією / О.А.Назарчук, В.Г.Палій, В.Д.Палій та ін.; заявник та патентовласник Вінницький нац. мед. університет ім. М.І.Пирогова. – №201205693. Заявл.: 10.05.2012. Опубл.: 12.11.2012. – Бюл. №21. – 4 с.
6. Steed D.L., Attinger C., Collazzi T. et al. // *Wound Repair. and Regeneration.* – 2006. – Vol. 14, №6. – P. 680-692.

МИКРОБИОЛОГИЧНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ АНТИСЕПТИКІВ, АНТИМИКРОБНИХ МАТЕРІАЛІВ

О.А.Назарчук, В.Г.Палій, О.О.Гончар, Д.П.Олійник, Г.Г.Назарчук, І.Г.Палій

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Ключові слова: антисептики; декасан; мірамистин; хлорогексидин; пов'язки; гнійно-запальні процеси

Досліджена ефективність антисептиків декасану (ДС), хлорогексидину біглюконату (ХГ), мірамистину (МР), антимікробної композиції декаметоксину (АМК, пат. №74853, Україна), антимікробних перев'язувальних матеріалів щодо виділених штамів мікроорганізмів *S. aureus* (n 32), *E. coli* (n 25), *P. aeruginosa* (n 20), *C. albicans* (n 16) від хворих на цукровий діабет з гнійно-запальними ускладненнями. Антимікробні властивості антисептиків вивчали методом серійних двократних розведень. Антимікробну активність зразків (1,0x1,0 см) медичної бавовни, імпрегнованої АМК; офіційальних перев'язувальних матеріалів: серветок антисептичних з хлорогексидином (САХ); Traumastem Biodress Disinfect® (ТВД); активтекс® Х; активтекс®ХФ на клінічні ізоляти мікроорганізмів вивчали на щільних поживних середовищах. Встановлено бактерицидну дію на *S. aureus* в присутності АМК (1,4±0,2 мкг/мл); ДС (1,73±0,2 мкг/мл); ХГ (12,8±2,1 мкг/мл); МР (8,3±0,9 мкг/мл). Бактерицидні властивості ДС і МР щодо *E. coli* визначали в присутності 6,68±0,71 та 17,9±1,9 мкг/мл відповідно. АМК (4,9±0,5 мкг/мл) була в 6 разів активнішою щодо *E. coli* порівняно з ХГ (p<0,001). Антипсевдомонадна дія ДС була в 1,5 рази вищою (79,2±7,4 мкг/мл), а АМК у 2,8 рази вищою, ніж у ХГ (p<0,001). Бактерицидну дію МР щодо *P. aeruginosa* встановили в присутності 72,9±2,2 мкг/мл. Встановлено чутливість *C. albicans* до АМК (7,4±1,9 мкг/мл), декасану (14,6±1,9 мкг/мл), мірамистину (26,0±3,6 мкг/мл). ХГ виявив низьку ефективність щодо *C. albicans* (32,8±7,4 мкг/мл). Визначені переваги антимікробної дії сучасних антимікробних перев'язувальних матеріалів з АМК щодо *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* (p<0,05).

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВРЕМЕННЫХ АНТИСЕПТИКОВ, АНТИМИКРОБНЫХ МАТЕРИАЛОВ

А.А.Назарчук, В.Г.Палій, О.О.Гончар, Д.П.Олейник, Г.Г.Назарчук, И.Г.Палій

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Ключевые слова: антисептики; декасан; мирамистин; хлорогексидин; повязки; гнойно-воспалительные процессы

Исследовали эффективность антисептиков декасана (ДС), хлорогексидина биглюконата (ХГ), мирамистина (МР), антимикробной композиции декаметоксина (АМК, пат. №74853, Украина), противомикробных перевязочных материалов в отношении выделенных штаммов микроорганизмов *S. aureus* (n 32), *E. coli* (n 25), *P. aeruginosa* (n 20), *C. albicans* (n 16) от больных сахарным диабетом с гнойно-воспалительными осложнениями. Противомикробные свойства антисептиков изучали методом серийных двукратных разведений. Противомикробную активность образцов (1,0x1,0 см) медицинской хлопчатобумажной ткани, импрегнированной АМК; официальных перевязочных материалов: салфеток антисептических с хлорогексидином (САХ); Traumastem Biodress Disinfect® (ТВД); активтекс® Х; активтекс®ХФ на клинические изоляты микроорганизмов изучали на плотных питательных средах. Установлено бактерицидное действие на *S. aureus* в присутствии АМК (1,4±0,2 мкг/мл); ДС (1,73±0,2 мкг/мл); ХГ (12,8±2,1 мкг/мл); МР (8,3±0,9 мкг/мл). Бактерицидные свойства ДС и МР в отношении *E. coli* определяли в присутствии 6,68±0,71 мкг/мл и 17,9±1,9 мкг/мл соответственно. АМК (4,9±0,5 мкг/мл) действовала в 6 раз активнее на *E. coli* по сравнению с ХГ (p<0,001). Антипсевдомонадное действие ДС было в 1,5 раза выше (79,2±7,4 мкг/мл), а у АМК в 2,8 раза выше, чем у ХГ (p<0,001). Бактерицидное действие МР в отношении *P. aeruginosa* установили в количестве 72,9±2,2 мкг/мл. Установлена чувствительность *C. albicans* к АМК (7,4±1,9 мкг/мл), ДС (14,6±1,9 мкг/мл), мирамистина (26,0±3,6 мкг/мл). ХГ выявил низкую эффективность в отношении *C. albicans* (32,8±7,4 мкг/мл). Определены преимущества противомикробного действия современных антимикробных перевязочных материалов с АМК в отношении *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* (p<0,05).

Адреса для листування:

21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Тел. (97) 729-37-61. E-mail: nazarchukoa@gmail.com.

Вінницький національний медичний університет

ім. М.І.Пирогова

Надійшла до редакції 26.09.2014 р.

УДК 616.12-008.331.1-055.2-074:577.124/.125:616.1

ФАКТОРИ КАРДІОВАСКУЛЯРНОГО РИЗИКУ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЖІНОК З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Н.І.Питецька

Харківський національний медичний університет

Ключові слова: фактори кардіоваскулярного ризику; метаболічні показники; артеріальна гіпертензія; жінки; вік

CARDIOVASCULAR RISK FACTORS AND METABOLIC PARAMETERS IN HYPERTENSIVE WOMEN

N.I.Pytetska

Kharkiv National Medical University

Key words: cardiovascular risk factors; metabolic indicators; arterial hypertension; women; age

Prevalence of arterial hypertension (AH) in women increases with age. One of the reasons for that is a menopause preceding the endocrinal disbalance that is responsible for growing incidence of the cardiovascular pathology. In the current study we determined modified factors of the cardiovascular risk and revealed peculiarities of metabolic indicators in hypertensive women depending on the age. We observed 220 hypertensive women at age from 30 to 79 years (the average age was 54.25 ± 0.40 years old) that were divided into 5 groups according to their age. Group 1 (30-39 years old) included 12 women, group 2 (40-49 years old) – 55 women, group 3 (50-59 years old) – 90 women, group 4 (60-69 years old) – 53 women and group 5 (70 years and older) – 10 women. The major modified factors of the cardiovascular risk, anthropometric parameters, indicators of glucose and lipid metabolism have been determined and the comparative analysis of the data obtained has been performed. It has been found that the lack of physical exercises, chronic stress and salt overuse were the major factors of the cardiovascular risk in hypertensive women. Worsening of anthropometric parameters was associated with increasing age, deterioration of indicators of lipid and glucose metabolism – with progression of obesity, general (according to the body mass index) and central (according to the waist circumference) ones.

Артеріальна гіпертензія (АГ) продовжує залишатись одним з найпоширеніших кардіоваскулярних захворювань, що є величезною загрозою для здоров'я і життя населення. Існує певна вікова і статева закономірність частоти захворювання. Поширеність АГ у жінок до 30 років приблизно в 2 рази нижча, ніж у чоловіків того ж віку. Ця відмінність починає скорочуватись у віці близько 40 років (ще до розвитку менопаузи) [8]. Протягом наступних 5-10 років частота АГ у жінок подвоюється, в період менопаузи становить 50%, а у віці після 75 років – 80% [3] і згодом перевищує аналогічний показник у чоловіків-ровесників [9]. За даними епідеміологічних досліджень після 45-50 років у жінок підвищується не тільки частота розвитку АГ, але й ризик виникнення ішемічної хвороби серця і су-

марний серцево-судинний ризик [5]. Після 60 років ступінь серцево-судинного ризику в жіночій популяції вищий, ніж у чоловічій [9]. Одна з основних причин значного поширення у жінок АГ – менопауза, яка порушує ендокринну рівновагу в організмі, що призводить до різкого зростання серцево-судинних захворювань (ССЗ), ускладнення яких нерідко стають основною причиною смерті [1, 6, 7].

Клімактерій (від грецьк. «climacter» – щабель сходів) – це фізіологічний період, протягом якого на тлі загальних вікових змін в організмі жінки переважають інволюційні процеси в репродуктивній системі, які характеризуються припиненням спочатку дітородної, а потім і менструальної функції. Дисгормональний стрес, що виникає в цей період, реалізується в підвищенні артеріального тиску (АТ)

та множинних порушеннях метаболізму. Погіршенню перебігу вже існуючої АГ може сприяти не тільки прогресуючий дефіцит естрогенів, але й наявність у хворих факторів серцево-судинного ризику. Мета нашого дослідження – визначення модифікованих факторів кардіоваскулярного ризику та особливостей метаболічних показників у жінок з АГ залежно від віку.

Матеріали та методи

Обстежено 220 жінок з АГ віком від 30 до 79 років (середній вік – $54,25 \pm 0,40$ роки), яких було розподілено на 5 груп залежно від віку. До 1-ї групи (від 30 до 39 років) увійшли 12 жінок, до 2-ї (від 40 до 49 років) – 55 жінок, до 3-ї (від 50 до 59 років) – 90 жінок, до 4-ї (від 60 до 69 років) – 53 жінки, до 5-ї (70 років і старше) – 10 жінок. Всім пацієнткам було проведено комплексне клінічне обстеження. Основні критерії виключення хворих з обстеження – симпто-

Таблиця 1

**Фактори кардіоваскулярного ризику серед жінок,
хворих на артеріальну гіпертензію залежно від віку, n=220**

Фактори ризику	Вікові групи (роки)				
	30-39 (n=12)	40-49 (n=55)	50-59 (n=90)	60-69 (n=53)	70 і > (n=10)
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)
Фізичні навантаження: у т.ч., сезонні	3 (25) 3 (25)	16 (29,1) 15 (27,3)	15 (49,9) 9 (43,3)	29 (54,7) 24 (45,3)	5 (50) 4 (40)
Психоемоційні навантаження: у т.ч. часті/постійні	12 (100) 6 (50)	55 (100) 43 (78,2)	90 (100) 67 (74,4)	53 (100) 31 (58,4)	10 (100) 8 (80)
Зловживання сіллю: у т.ч. постійно	2 (16,7) –	20 (36,3) 8 (14,5)	36 (40) 16 (17,8)	23 (43,4) 10 (18,9)	5 (50) 2 (20)
Паління	2 (16,7)	11 (20)	5 (5,5)	1 (1,9)	–

матична АГ, гострий коронарний синдром та інсульт, наявність супутніх запальних та ендокринних захворювань, а також систолічна дисфункція лівого шлуночка (ФВ 40% і менше).

Для вирішення поставленої задачі визначали антропометричні показники, показники вуглеводного і жирового обміну. Ожиріння виявляли, використовуючи індекс маси тіла (ІМТ), який обчислювали як відношення маси тіла (кг) і зросту (м²). Наявність центрального ожиріння визначали згідно з критеріями, розробленими експертами Міжнародної федерації з діабету (2007) [2]. Показники вуглеводного обміну – базальний рівень глюкози в сироватці крові натще та після перорального глюкозо-толерантного тесту (ПГТТ) визначали біохімічним методом, рівень інсуліну – радіоімунним методом з використанням набору реактивів «рио-ИНС-ПГ-125I» (Беларусь), інсулінорезистентність – за допомогою індексу НОМА (глюкоза натщесерце (ммоль/л) × інсулін натщесерце (мкЕд/мл)/22,5. Показники ліпідного обміну (ЛО): загальний холестерин (ЗХС), рівень холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХСЛПВЩ), тригліцеридів (ТГ) визначалися уніфікованими методами за допомогою наборів реагентів компанії «LACHEMA» (Чехія). Окрім цього, розраховували рівень холестерину ліпопротеїдів низь-

кої щільності (ХСЛПНЩ) за формулою Friedewald [10] і коефіцієнт атерогенності (КА).

Результати та їх обговорення

Аналіз даних щодо наявності факторів кардіоваскулярного ризику показав, що лише незначна кількість жінок мала щоденні фізичні навантаження незалежно від віку. Але після 40 років виявлено тенденцію до збільшення відсотка жінок з регулярними фізичними навантаженнями (табл. 1).

Часті або постійні психоемоційні навантаження переважали в усіх вікових категоріях, що, можливо, є свідченням взаємозв'язку між психогенним фактором і розвитком АГ. Відсоток хворих, що надмірно вживали сіль, з віком поступово збільшувався і мав максимальне значення у найстаршій віковій категорії – 50%. Доведено, що надмірне споживання повареної со-

лі є не лише фактором стабілізації АГ. Накопичення натрію призводить до спотворення чутливості і зміни осморцепторів гіпоталамо-гіпофізарної системи і нирок і вазопресорних реакцій стінки судин до пресорних стимулів. До 50 років палили 13 (14,9%) жінок. Після 50 років цей відсоток зменшився в 3,8 рази і склав 3,9% (6).

Таким чином, хворі на АГ жінки асоціювалися з гіподинамією, хронічними психоемоційними навантаженнями та зловживанням повареною сіллю, що є не лише фактором стабілізації АГ, але й прогресування АГ.

Аналіз антропометричних показників виявив, що 10% жінок мали нормальну масу тіла, 37,2% жінок – надмірну, 52,2% – ожиріння (табл. 2). При цьому жінки з нормальною масою тіла найчастіше зустрічалися у віці від 30 до 39 років. Після 40 років у кожній віковій категорії переважали жінки з ожирінням, а

Таблиця 2

**Антропометричні показники у жінок з артеріальною
гіпертензією залежно від віку, n=220**

Вікова група	Маса тіла		
	нормальна, абс. (%)	надлишкова, абс. (%)	ожиріння, абс. (%)
30-39 років (n=12)	2 (16,7)	5 (41,7)	5 (41,7)
40-49 років (n=55)	6 (10,9)	23 (41,8)	26 (47,3)
50-59 років (n=90)	6 (6,7)	38 (42,2)	46 (51,1)
60-69 років (n=53)	8 (15,1)	16 (30,2)	29 (54,7)
70 і старше (n=10)	–	–	10 (100)

Таблиця 3

Показники ліпідного і вуглеводного обміну у жінок з артеріальною гіпертензією залежно від віку, n=220

Показники	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
ЗХС, ммоль/л	4,88±0,33	5,06±0,13	5,18±0,09	5,22±0,11	5,27±0,40
ТГ, ммоль/л	1,09±0,16	1,14±0,08	1,18±0,05	1,25±0,06	1,34±0,13
ХСЛПВЩ, ммоль/л	1,29±0,11	1,21±0,05	1,13±0,03	3,86±0,16	0,90±0,07
ХСЛПНЩ, ммоль/л	3,37±0,41	3,62±0,13	3,81±0,11	1,11±0,05	3,94±0,36
Глюкоза натщесерце, ммоль/л	4,49±0,23	4,96±0,19	5,14±0,13	5,28±0,15	5,31±0,27
Глюкоза ч/з 2 год, ммоль/л	5,61±0,27	6,02±0,22	6,19±0,18	6,33±0,27	6,50±0,31
Інсулін натщесерце, мкЕд/мл	8,40±1,48	8,83±0,8	10,66±1,22	10,92±0,81	10,65±1,12

в найстаршій групі вони склали 100%.

Таким чином, у віці понад 40 років ожиріння, яке асоціюється з більш важким перебігом АГ та більш високим ризиком недосягнення цільового рівня АТ [4], було виявлене, в середньому, у кожної другої жінки (50,4%).

Окружність талії (ОТ) ≥ 80 см виявлено у 11 (91,7%) жінок 1-ї, 48 (87,3%) жінок 2-ї, 84 (93,3%) жінок 3-ї, 52 (98,1%) жінок 4-ї і 10 (100%) жінок 5-ї групи. Таким чином, у 205 (93,2%) обстежених жінок виявлено центральне ожиріння, яке є самостійним фактором ризику виникнення дисліпідемії та порушень вуглеводного обміну незалежно від вираженості самого ожиріння [11].

Аналіз показників ліпідного обміну виявив тенденцію до поступового підвищення рівня ЗХС, ТГ, ХСЛПНЩ з віком з максимальними значеннями цих показників у групі 70 і старше, значення ХСЛПВЩ поступово зменшувалось з віком і в групі 70 років і старше було найнижчим, достовірно відрізняючись від значень ХСЛПВЩ у жінок 1-ї, 2-ї, 3-ї і 4-ї груп ($p < 0,01$, $p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,01$ відповідно) (табл. 3).

Таким чином, зниження рівня ХСЛПВЩ у жінок з підвищеним рівнем АТ можна вважати раннім маркером початку порушень ЛО.

При оцінці вікової динаміки показників вуглеводного обміну рівень базальної глюкози підвищувався з віком, але достовірно – лише в 3-й, 4-й і 5-й групах, порівнюючи з 1-ю ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,05$ відповідно). Виявлено тенденцію до поступового підвищення концентрації базального інсуліну з віком ($p > 0,05$ в усіх випадках). Достовірне підвищення рівня постпрандіальної глюкози спостерігалось лише в 5-й групі порівняно з 1-ю ($p < 0,05$). Інсулінорезистентність визначено у 8,3% жінок 1-ї групи, 14,5% жінок 2-ї групи, 20% жінок 3-ї групи, 17,0% жінок 4-ї групи, 30% жінок 5-ї групи.

У жінок з надлишковою масою тіла встановлено достовірний взаємозв'язок між рівнем базальної і постпрандіальної глюкози ($r = 0,51$, $p < 0,001$), потужність якого зростала у жінок з ожирінням ($r = 0,74$, $p < 0,001$), тоді як рівень інсуліну достовірно корелював з ІМТ лише в групі жінок з ожирінням ($r = 0,27$, $p < 0,05$), що узгоджується з відомими даними щодо несприятливої ролі підвищеної маси тіла у розвитку ЦД.

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать, що зусилля медиків стосовно жінок, хворих на АГ, повинні бути спрямовані не тільки на зниження АТ, але й на заходи, спрямо-

вані на боротьбу з факторами ризику, що модифікуються: маси тіла, особливо центрального ожиріння, паління, підвищеного споживання повареної солі, гіподинамії незалежно від віку, що спричиняють прогресування вже існуючої АГ та метаболічних порушень і призводять до фатальних ускладнень основного захворювання.

ВИСНОВКИ

1. Визначені основні фактори кардіоваскулярного ризику у жінок, хворих на АГ: гіподинамія, хронічні психоемоційні навантаження, зловживання повареною сіллю.

2. У жінок, хворих на АГ, встановлено асоціацію між віком і негативною динамікою антропометричних показників: прогресуванням загального ожиріння (за ІМТ) і центрального ожиріння (за ОТ).

3. Суттєві погіршення показників ліпідного і вуглеводного обміну у жінок з підвищеним рівнем артеріального тиску асоціюються з прогресуванням як загального, так і центрального ожиріння.

4. Виявлено, що у жінок з артеріальною гіпертензією найбільш інформативним є рівень ХСЛПВЩ, концентрація якого з віком достовірно зменшувалась, що може вважатись раннім маркером початку порушень ліпідного обміну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Давыдова И.В. // Укр. мед. вісник. – 2006. – №9. – С. 44-48.
2. Alberti K.G., Sbow J., Zimmet P. // Lancet. – 2005. – Vol. 366. – P. 1059-1062.
3. Atsma F., Bartelink M., Grobbee D.E. et al. // Menopause. – 2006. – Vol. 13. – P. 265-279.
4. Bromlage P., Pittrow D., Wittchen H.U. et al. // Am. J. Hypertens. – 2004. – Vol. 17. – P. 904-910.
5. Carriere L., Dupuy A.M., Scali J. et al. // Climacteric. – 2008. – Vol. 11. – P. 74-83.
6. Casiglia E., Mormino P., Tikhonoff V. et al. // J. Hypertens. – 2002. – Vol. 20, Suppl. 2. – P. S17-S22.
7. Cifkova R., Lejskova M., Pitha I. et al. // J. Hypertens. – 2008. – Vol. 26. – P. 1976-1982.
8. Coylewright M., Reckelhoff J.F., Ouyang P. // Hypertens. – 2008. – Vol. 51. – P. 952-959.
9. Franklin S.S. // J. Hypertens. – 2002. – Vol. 20, Suppl. 2. – P. 3-5.
10. Friedewald W.T., Fredrickson D.S., Levy R.I. // Clin. Chem. – 1972. – Vol. 18. – P. 449-502.
11. Wajchenberg B.L. // Endocrin. Rev. – 2000. – Vol. 21. – P. 697-738.

ФАКТОРИ КАРДИОВАСКУЛЯРНОГО РИЗИКУ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЖІНОК З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ**Н.І.Питецька****Харківський національний медичний університет**

Ключові слова: фактори кардіоваскулярного ризику; метаболічні показники; артеріальна гіпертензія; жінки; вік

Поширеність артеріальної гіпертензії (АГ) у жінок зростає з віком. Одна з основних причин – менопауза, яка порушує ендокринну рівновагу в організмі, що призводить до різкого зростання серцево-судинних захворювань. У дослідженні проведено визначення модифікованих факторів кардіоваскулярного ризику та особливостей метаболічних показників у жінок з АГ в залежності від віку. Обстежено 220 жінок з АГ віком від 30 до 79 років (середній вік – $54,25 \pm 0,40$ років), яких було розподілено на 5 вікових груп. До 1-ї групи (від 30 до 39 років) увійшли 12 жінок, до 2-ї (від 40 до 49 років) – 55 жінок, до 3-ї (від 50 до 59 років) – 90 жінок, до 4-ї (від 60 до 69 років) – 53 жінки, до 5-ї (70 років і старше) – 10 жінок. Для вирішення поставленої задачі визначені основні фактори кардіоваскулярного ризику, що модифікуються, антропометричні показники, показники вуглеводного і жиrowого обмінів та проведено порівняльну оцінку одержаних даних. Встановлено, що основними факторами кардіоваскулярного ризику у гіпертензивних жінок є гіподинамія, хронічні психоемоційні навантаження, зловживання повареною сіллю. Негативна динаміка антропометричних показників асоціювалася з віком жінок, суттєві погіршення показників ліпідного і вуглеводного обмінів – з прогресуванням як загального (за індексом маси тіла), так і центрального (за окружністю талії) ожиріння.

ФАКТОРЫ КАРДИОВАСКУЛЯРНОГО РИСКА И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЖЕНЩИН С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**Н.И.Питецкая****Харьковский национальный медицинский университет**

Ключевые слова: факторы кардиоваскулярного риска; метаболіческие показатели; артериальная гипертензия; женщины; возраст

Распространенность артериальной гипертензии (АГ) у женщин увеличивается с возрастом. Одна из основных причин – менопауза, которая нарушает эндокринное равновесие в организме, приводящее к резкому росту сердечно-сосудистых заболеваний. В исследовании проведено определение модифицированных факторов кардиоваскулярного риска и особенностей метаболіческих показателей у женщин с АГ в зависимости от возраста. Обследовано 220 женщин с АГ от 30 до 79 лет (средний возраст $54,25 \pm 0,40$ года), которые были распределены на 5 возрастных групп. В 1-ю группу (от 30 до 39 лет) вошли 12 женщин, во 2-ю (от 40 до 49 лет) – 55 женщин, в 3-ю (от 50 до 59 лет) – 90 женщин, в 4-ю (от 60 до 69 лет) – 53 женщины, в 5-ю (70 лет и старше) – 10 женщин. Для решения поставленной задачи определены основные модифицируемые факторы кардиоваскулярного риска, антропометрические показатели, показатели углеводного и жиrowого обменов и проведена сравнительная оценка полученных данных. Установлено, что основными факторами кардиоваскулярного риска у гипертензивных женщин являются гиподинамия, хронические психоемоциональные нагрузки, злоупотребление поваренной солью. Отрицательная динамика антропометрических показателей ассоциировалась с возрастом женщин, существенные ухудшения показателей липидного и углеводного обменов – с прогрессированием как общего (по индексу массы тела), так и центрального (по окружности талии) ожирения.

Адреса для листування:

61022, м. Харків, пр. Леніна, 4.

Тел. (57) 732-33-44. E-mail: natali.pytetska@mail.ru.

Харківський національний медичний університет

Надійшла до редакції 06.10.2014 р.

УДК 616.379-008.9:616.12-008.46:616.379-008.64

РОЛЬ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ХВОРИХ ІЗ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ ЗІ ЗБЕРЕЖЕНОЮ СИСТОЛІЧНОЮ ФУНКЦІЄЮ ЛІВОГО ШЛУНОЧКА

Г.В.Болотських, Ю.С.Рудик, С.М.Пивовар

ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т.Малої НАМН України»

Ключові слова: інсулінорезистентність; фактор некрозу пухлин альфа; галектин-3; серцева недостатність зі збереженою систолічною функцією лівого шлуночка; цукровий діабет 2 типу

THE ROLE OF INSULIN RESISTANCE IN PATIENTS WITH HEART FAILURE WITH PRESERVED SYSTOLIC FUNCTION OF THE LEFT VENTRICLE

A.V.Bolotskykh, Yu.S.Rudyk, S.M.Pyvovar

“Institute of Therapy named after L.T.Malaya of the NAMS of Ukraine” State Institution

Key words: insulin resistance; tumor necrosis factor alpha; galectin-3; heart failure with preserved systolic function of the left ventricle; type 2 diabetes mellitus

The serum levels of TNF- α , Gal-3 in patients with heart failure with preserved systolic function (HFPSF) with and without insulin resistance (IR) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) and their relationship have been investigated. Seventy-two patients (39 males and 33 females; the average age is 62.1 \pm 9.2 years old) with HFPSF of ischemic genesis, EF LV > 45% with and without concomitant IR and T2DM were examined. The content of Gal-3, TNF- α and insulin were measured in the serum by ELISA according to the manufacturer's instructions. The Homeostasis Model Assessment (HOMA) index was calculated as a measure of IR at fasting state (IR=fasting glucose \times fasting insulin/22.5), after that the patients were divided into three groups: 30 patients with HFPSF and IR, 31 patients with HFPSF and T2DM and 11 patients with HFPSF and without T2DM and IR. Spearman's correlation analysis and Kruskal-Wallis test were used. All statistical tests were 2-tailed, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. The results obtained showed that Gal-3, TNF- α and insulin levels in patients with HF and IR were significantly higher than in patients with HF without IP and T2DM and patients with HF and T2DM ($p < 0.05$, $p < 0.05$ and $p < 0.0001$, respectively). The association between Gal-3 level and the ratio of transmitral flow peak velocities (E/A) ($r = -0.272$; $p < 0.05$); the serum TNF-alpha levels ($r = 0.610$; $p < 0.001$); insulin levels ($r = 0.331$; $p < 0.01$); the value of HOMA index ($r = 0.293$; $p < 0.02$) was found. Significant relationships of the serum Gal-3 and serum TNF- α levels in patients with HF and IR and patients with HF and T2DM was also revealed. The reliability of difference in the strength of relationship was searched. Analysis has shown that the strength of the serum level relationship of TNF- α and Gal-3 increases from patients with HF and IR ($r = 0.520$) to patients with HF and T2DM ($r = 0.709$) ($p_r < 0.05$).

Серцева недостатність (СН) є однією з вагомих причин смертності та інвалідності у країнах Західного світу, наявність якої значно збільшує витрати на лікування. Також лікування таких хворих потребує значних коштів, частина з яких припадає на стаціонарне лікування, а зважаючи на демографічну тенденцію в Україні щодо зростання питомої ваги населення старших вікових груп, питання розробки нових методів профілактики прогресування, своєчасної діагностики та лікування СН набуває дедалі більшої актуальності [5]. Відомо, що цукровий діабет (ЦД) обтяжує клінічний перебіг та прогноз СН, особливо зумовленої ішемічною

хворобою серця (ІХС). Впродовж останніх років кількість хворих на ЦД, переважно другого типу, в Україні значно збільшилась та нараховує близько 1,1 млн осіб. Очікується, що до 2025 року кількість пацієнтів з ЦД наблизиться до відмітки 5% [2], а в глобальному масштабі поширеність ЦД, ймовірно, збільшиться з 371 млн осіб у 2013 році до 552 млн осіб у 2030 році [17]. Ця епідемія в основному відноситься до цукрового діабету 2 типу (ЦД 2 типу), який становить близько 90-95% всіх випадків. Сучасний стиль життя, навколишнє середовище та генетичні фактори, а особливо взаємодія двох останніх, впливають на розвиток такої епідемії ЦД,

що тісно пов'язано зі збільшенням розвитку та розповсюдження ожиріння. Відмінною рисою ЦД 2 типу та ожиріння є інсулінорезистентність (ІР), яка впливає на серце за допомогою різних патофізіологічних механізмів.

Проблема ІР на сьогодні надзвичайно актуальна. Під ІР розуміють знижену чутливість або реактивність до метаболічної дії інсуліну. Незважаючи на те, що порушення інсулін-стимульованого засвоєння глюкози значно поширене при серцево-судинних захворюваннях, ступінь активації кіназних сигнальних шляхів різний і залежить від тяжкості та тривалості перебігу ожиріння або ЦД. У теперішній час продовжуються дослідження фізіологічної та патофізіологічної ролі ІР при захворюваннях сер-

ця. Важливу роль у патогенезі синдрому ІР відіграє активація системи цитокінів [14], а дисбаланс деяких з них (підвищення інтерлейкіну (ІЛ)-6, фактора некрозу пухлини (ФНП)- α та зниження ІЛ-10, ІЛ-4) вважають предикторами судинних ускладнень. Прозапальні цитокіни здатні моделювати кардіоваскулярну функцію через низку механізмів, результатом яких є гіпертрофія, дилатація лівого шлуночка (ЛШ) серця, дисфункція міокарда, ендотеліальна дисфункція, кардіоміопатія та фіброз [21], тому в останні роки значна увага дослідників прикута до з'ясування патофізіологічної ролі цитокінів у патогенезі низки серцево-судинних захворювань, які традиційно не пов'язані з запаленням, зокрема СН різної етіології [30].

Для забезпечення високих енергетичних потреб серце здатне використовувати різні метаболічні субстрати. Незважаючи на те, що інсулінова сигналізація може безпосередньо регулювати метаболічні процеси в міокарді, основна її роль полягає в доставці субстрату до серця з периферії. При накопиченні надмірної кількості ліпідів у вісцеральній жировій тканині вона набуває продіабетогенних властивостей: накопичуються макрофаги, які секретують прозапальні цитокіни, під дією яких відбувається зниження чутливості до інсуліну.

При цьому ФНП- α збільшує експресію генів, які беруть участь у синтезі *de novo* вільних жирних кислот, що відповідають за ІР і подальше формування ЦД [25]. Клінічні дослідження підтверджують зв'язок ЦД з дисфункцією лівого шлуночка (ЛШ), яка виникає незалежно від наявності гіпертензії чи ІХС. Це співпадає з висновками авторів, які продемонстрували взаємозв'язки між рівнями прозапальних цитокінів і ступенем вираженості ремоделювання ЛШ у хворих з супутніми метаболічними

порушеннями, в тому числі й ЦД [30].

Таким чином, зміни в міокарді при СН в умовах наявності ЦД 2 типу морфологічно характеризуються гіпертрофією кардіоміоцитів та міокардіальним фіброзом з більшою кількістю екстрацелюлярного матриксу в інтерстиції стінки шлуночків [23].

Останнім часом у літературі описана досить велика кількість маркерів фіброзу міокарда, але особлива увага у пацієнтів з СН приділяється новому біомаркеру фіброзу – галектину-3. Галектин-3 являє собою β -галактозид-зв'язуючий білок з м.м. 26 кДа, що належить до родини галектинів [13] та має структуру у вигляді тандемних повторів коротких амінокислотних послідовностей – N-кінцевий домен, пов'язаний з C-кінцевим вуглеводородозрізняючим доменом (близько 130 амінокислот). При цьому C-кінцевий домен відповідає за лектинову активність, а присутність N-кінцевого домену необхідна для повної біологічної активності Гал-3 [6, 19].

Гал-3 знаходиться у клітинах різних тканин. Він локалізується в цитоплазмі, саркоплазматичному ретикулумі, ядрах і мітохондріях. Цитозольний пул Гал-3 при активації зміщується до плазматичної мембрани і інтегрується в пухирцях для виділення з мембрани. Гал-3 бере участь у багатьох біологічних процесах, таких як зростання і проліферація клітин, апоптоз, ендогенне запалення, фіброз міокарда та ін. [1, 9, 11, 12].

Зв'язок роботи з науковими програмами і темами

Робота виконувалася відповідно до основного плану науково-дослідних робіт ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т.Малої НАМН України», відділу клінічної фармакології та фармакотерапії і являє собою фрагмент теми «Встановити особливості застосування БАБ

у лікуванні хворих з серцевою недостатністю в поєднанні з цукровим діабетом 2 типу на основі вивчення поліморфізму генів β -адренорецепторів» (держреєстрація № 0113U001141).

Мета дослідження – вивчення рівнів сироваткових ФНО- α , сироваткового Гал-3 у пацієнтів із СН зі збереженою систолічною функцією на тлі ІР та ЦД 2 типу та без нього та їх зв'язки.

Матеріали та методи

Обстежено 72 пацієнтів з СНзСФ І-ІІІ ФК ішемічного генезу, ФВ ЛШ > 45%; та тлі коморбідної патології (ЦД та ІР) (39 чоловіків і 33 жінки, середній вік – 62,1 \pm 9,2 роки). Хворі були розподілені на три групи. До першої увійшло 30 (41,7%) пацієнтів із СН на тлі ІР. До другої – 31 (43,1%) хворий із СН в поєднанні з ЦД 2 типу. Третью групу склали 11 (15,3%) хворих із СН без ЦД та ІР. Клінічна характеристика обстежених хворих наведена в табл. 1. Всі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Критеріями невключення в дослідження були: СН зі зниженою систолічною функцією ЛШ (фракцією викиду < 45%); ЦД 1 типу, клапанні вади серця; нещодавні (до 10 діб) епізоди гострої СН; гострий коронарний синдром протягом попередніх 3 міс.; запальні захворювання в стадії загострення; підвищення функції щитоподібної залози; онкологічні захворювання.

Визначення вмісту галектину-3, фактора некрозу пухлин α та інсуліну проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням моно- та поліклональних антитіл до аналітів відповідно до інструкцій щодо наборів реактивів. Вимірювання оптичної щільності проводили на напіваавтомаітичному імуноферментному аналізаторі «Immunochem-2100». Вміст глюкози в сироватці крові визначали глюкозооксидаз-

Таблиця 1

Клінічна характеристика пацієнтів, включених у дослідження (Me [LQ; UQ]), n=72

Показник	Група 1 – Хворі з ХСН без ІР та ЦД (n=11)	Група 2 – Хворі з ХСН з ІР без ЦД (n=30)	Група 3 – Хворі з ХСН та ЦД (n=31)	p
Стать (чоловіки/жінки), n (%)	8 (72,7%)/3 (27,3%)	18 (60,0%)/12 (40,0%)	13 (38,7%)/18 (58,1%)	> 0,05
Вік, роки	64,0 [58,0; 67,0]	60,50 [54,0; 65,0]	64,0 [61,0; 71,0]	> 0,05
Систолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	160,0 [140,0; 170,0]	170,0 [160,0; 180,0]	160,0 [160,0; 180,0]	> 0,05
Діастолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	100,0 [90,0; 100,0]	100,0 [90,0; 101,0]	100,0 [86,0; 100,0]	> 0,05
ЧСС, в 1 хв	78,0 [62,0; 82,0]	75,50 [67,50; 85,25]	72,0 [66,0; 80,0]	> 0,05
Індекс маси тіла, кг/м ²	29,86 [28,75; 31,20]	31,14 [29,35; 34,09]	32,65 [30,85; 34,25]	> 0,05
6-хвилинний тест (M ± s)	350,0 [210,0; 408,0]	339,50 [245,50; 400,0]	254,0 [178,0; 379,0]	> 0,05
ШОКС, бали (M ± s)	2,0 [2,0; 3,0]	3,0 [2,0; 3,0]	3,5 [3,0; 4,0]	< 0,0001
ФК СН (M ± s)	2,0 [2,0; 3,0]	2,0 [2,0; 2,0]	3,0 [2,0; 3,0]	< 0,001
Фракція викиду лівого шлуночка, % (M ± s)	58,0 [57,0; 60,0]	61,0 [56,75; 64,00]	61,0 [57,0; 62,0]	> 0,05
Е/А (M ± s)	0,81 [0,8; 1,01]	0,8 [0,8; 0,9]	0,82 [0,80; 1,2]	> 0,05
Глюкоза, ммоль/л	4,83 [4,31; 5,25]	5,93 [5,30; 6,72]	7,37 [6,31; 10,1]	< 0,0001
Інсулін, мкМО/мл	7,99 [6,69; 9,79]	22,41 [14,88; 40,73]	13,39 [8,27; 21,42]	< 0,0001
Індекс НОМА, ум. од.	1,62 [1,53; 2,28]	5,82 [3,96; 10,63]	3,64 [2,37; 7,75]	< 0,0001
Галектин-3, нг/мл	2,76 [2,34; 3,08]	3,32 [2,88; 3,80]	2,88 [2,56; 3,52]	= 0,032
ФНП-α	3,21 [2,75; 3,59]	5,49 [3,72; 6,86]	4,74 [3,15; 7,66]	= 0,012

ним методом відповідно до інструкції щодо набору реагентів. Вимірювання оптичної щільності проводили на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі СЕМ-7. Для оцінки ступеня ІР використовувався гомеостатичний індекс ІР (НОМА – ІР), що розраховувався за формулою: $\text{НОМА} - \text{ІР} = \text{глюкоза натще (ммоль/л)} \times \text{інсулін натще (мкЕД/мл)} / 22,5$. Ехокардіографічні параметри вимірювалися в М- і В-режимах за допомогою ультразвукового апарату Vivid 3 (Японія) з датчиком 2,5 МГц і розраховувалися згідно з рекомендаціями Американського ехокардіографічного товариства.

Статистичний аналіз

Аналіз отриманих даних проведено за допомогою стандартних методів із застосуванням пакетів прикладних програм Microsoft Excel 7,0 та «SPSS 17.0». Для оцінки характеру розподілу в сукупності за вибірковими даними використовували тест Колмогорова-Смирнова. Отримані дані представлені у вигляді медіани та інтерквартильного розмаху (25-й і 75-й процен-

тилі). При порівнянні трьох вибірок та більше використовували непараметричний критерій Краскела-Уолеса. Для встановлення взаємозв'язку кількісних ознак вибірових даних з сукупностей з нормальним розподілом або без нього застосовували багатофакторний кореляційний аналіз з використанням рангового коефіцієнта кореляції Спірмена (rs). Результати вважалися достовірними за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За віком, статтю, рівнем систолічного і діастолічного артеріального тиску, частотою серцевих скорочень, індексом маси тіла, дистанцією 6-хвилинної ходи фракції викиду лівого шлуночка та індексом Е/А групи не відрізнялися (табл. 1). У той же час виявлена достовірна розбіжність між групами за сумою балів по ШОКС ($p < 0,0001$) та розподілом функціонального класу серцевої недостатності ($p < 0,001$) (табл. 1).

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що

сироваткова концентрація галектину-3, ФНП-α, інсуліну в 1, 2 і 3 групах хворих прогресивно зростала. При цьому у пацієнтів 2 групи вона була достовірно вище, ніж в осіб 1 та 3 груп відповідно на 16% ($p < 0,05$) і 13,3% ($p < 0,05$) по галектину-3, на 41,5% ($p < 0,05$) і 13,7% ($p < 0,05$) – по ФНП-α і на 64,3% ($p < 0,0001$) і 40,2% ($p < 0,0001$) – по інсуліну.

Під час проведення кореляційного аналізу в цілому по групі хворих з СН була виявлена пряма залежність помірної сили, значення індексу ШОКС та функціонального класу СН від сироваткового рівня глюкози ($r = 0,321$; $p < 0,01$ та $r = 0,334$; $p < 0,01$, відповідно) (табл. 2).

Сироватковий рівень галектину-3 мав зворотну кореляцію з величиною співвідношення пікових швидкостей трансмітрального кровоплину (Е/А) ($r = -0,272$; $p < 0,05$); пряму залежність з сироватковим рівнем ФНП ($r = 0,610$; $p < 0,001$); з рівнем інсуліну ($r = 0,331$; $p < 0,01$); величиною індексу НОМА ($r = 0,293$; $p < 0,02$). В свою чергу, сироватковий рівень ФНП мав пряму

залежність малої сили з індексом НОМА ($r = 0,259$; $p < 0,05$).

Серед хворих, які увійшли до першої групи (СН в поєднанні з ІР), величина фракції викиду ЛШ мала пряму залежність від показників сироваткової концентрації ФНП ($r = 0,409$; $p < 0,05$), індексу НОМА ($r = 0,375$; $p < 0,05$); глюкози ($r = 0,395$; $p < 0,05$). Як і в загальній групі, хворі з СН та ІР мали прямий взаємозв'язок між рівнем ФНП та галектином ($r = 0,520$; $p < 0,01$) (табл. 3).

У другій групі хворих (СН у поєднанні з ЦД) було знайдено прямий взаємозв'язок тільки між рівнем ФНП та галектином ($r = 0,709$; $p < 0,01$) (табл. 4).

У третій групі пацієнтів (хворі з СН без супутнього ЦД та ІР) знайдена зворотна кореляція між рівнем галектину та величиною співвідношення пікових швидкостей трансмітрального кровоплину (Е/А) ($r = -0,935$; $p < 0,001$) (табл. 5).

З урахуванням виявлення кореляційного зв'язку між сироватковими рівнями ФНП та галектину в групі хворих із СН на тлі ІР та СН на тлі ЦД проведено пошук вірогідності різниці сил зв'язку. Аналіз продемонстрував, що сила зв'язку сироваткового рівня ФНП з галектином зростає від хворих з ІР ($r = 0,520$) до пацієнтів з ЦД ($r = 0,709$) ($p_{gr} < 0,05$) (табл. 6).

При СН відбуваються зміни у серцевому м'язі, викликані ремоделюванням морфологічної та анатомічної структури серця, гіперактивацією симпатoadреналової та ренін-ангіотензин-альдостеронової систем. У пацієнтів із СН для задоволення збільшених метаболічних потреб зростання серцевого викиду відбувається за рахунок збільшення ударного об'єму, що призводить до розвитку ексцентричної гіпертрофії ЛШ.

Міокардіальна дисфункція внаслідок дифузного, не ішемічного фіброзу асоційована з ожирінням [32], артеріальною гіпертензією [12], старінням [26] та ЦД [18].

Таблиця 2

Кореляційні зв'язки у хворих із серцевою недостатністю, n=72

Показник	ФК	ФВ ЛШ	ШОКС	Е/А	ФНП	Галектин
Глюкоза	$r=0,334$; $p<0,01$	-	$r=0,321$; $p<0,01$	-	-	-
Інсулін	-	-	-	-	-	$r=0,331$; $p<0,01$
Галектин	-	-	-	$r = -0,272$; $p < 0,05$	-	-
ФНП	-	-	-	-	-	$r=0,610$; $p<0,001$
НОМА	-	-	-	-	$r=0,259$; $p<0,05$	$r=0,293$; $p<0,02$

Таблиця 3

Кореляційні зв'язки у хворих із серцевою недостатністю на тлі інсулінорезистентності, n=30

Показник	ФК	ФВ ЛШ	ШОКС	Е/А	ФНП	Галектин
Глюкоза	-	$r = 0,395$; $p < 0,05$	-	-	-	-
Інсулін	-	-	-	-	-	-
Галектин	-	-	-	-	-	-
ФНП	-	$r = 0,409$; $p < 0,05$	-	-	-	$r = 0,520$; $p < 0,01$
НОМА	-	$r = 0,375$; $p < 0,05$	-	-	-	-

Таблиця 4

Кореляційні зв'язки у хворих із серцевою недостатністю на тлі цукрового діабету 2 типу, n=30

Показник	ФК	ФВ ЛШ	ШОКС	Е/А	ФНП	Галектин
Глюкоза	-	-	-	-	-	-
Інсулін	-	-	-	-	-	-
Галектин	-	-	-	-	-	-
ФНП	-	-	-	-	-	$r = 0,709$; $p < 0,01$
НОМА	-	-	-	-	-	-

Таблиця 5

Кореляційні зв'язки у хворих із серцевою недостатністю без цукрового діабету та інсулінорезистентності, n=11

Показник	ФК	ФВ ЛШ	ШОКС	Е/А	ФНП	Галектин
Глюкоза	-	-	-	-	-	-
Інсулін	-	-	-	-	-	-
Галектин	-	-	-	$r = -0,935$; $p < 0,001$	-	-
ФНП	-	-	-	-	-	-
НОМА	-	-	-	-	-	-

Таблиця 6

Сила зв'язків сироваткових рівнів фактора некрозу пухлин та галектину, n=61

Групи		p _{rr}
I (СН та ІР) (n = 30)	II (СН та ЦД) (n = 31)	
r=0,520; p<0,01	r=0,709; p<0,01	< 0,05

На теперішній час дані про енергетичне та гуморальне забезпечення міокарда, порушення механізмів їх взаємодії та регуляції при СН нечисленні. З'явилися відомості про взаємозв'язок ефективності функціонування серця у хворих на ІХС з вираженістю гіперінсулінемії. При цьому тяжкість клінічних проявів СН визначається чутливістю міокарда і периферичних м'язів до інсуліну і його вмістом у крові. У нашому дослідженні було продемонстровано, що підвищення рівня глюкози сироватки крові асоціюється з погіршенням функціонального класу серцевої недостатності та клінічного стану за ШОКС. Це співпадає з висновками нещодавно проведених мета-аналізів, у ході яких було продемонстровано, що підвищення рівня інсуліну і концентрації глюкози в осіб без діабету були пов'язані з підвищеним ризиком розвитку серцево-судинних захворювань [27, 28]. Більше того, підвищення вмісту глюкози та інсуліну в сироватці крові чинить проатерогенну дію [16], що може бути перспективою подальших досліджень.

У свою чергу, підвищення рівня інсуліну та глюкози є прямим наслідком резистентності до інсуліну. ІР може сприяти розвитку атеросклерозу не тільки через підвищення глюкози та інсуліну, а ще й через механізми, які включають дисліпідемію, гіпертонію та запалення [4, 16]. Відомо, що основним цитоплазматичним субстратом ферментативної активності інсулінового рецептора є IRS-1 [7]. ФНП-α, взаємодіючи з рецептором IRS-1,

можливо, інгібує шлях передачі інсулінового сигналу до клітини шляхом зниження активності тирозинкінази інсулінового рецептора і фосфорилування тирозину. В нашому дослідженні було виявлено, що рівні ФНП-α прогресивно зростали. При цьому у пацієнтів з СН та тлі ІР вони були достовірно вище, ніж в осіб з СН без ІР та ЦД та з СН і ЦД. Наявність у пацієнтів з СН та ЦД 2 типу більш низьких рівнів цього прозапального цитокіну у порівнянні з пацієнтами з ІР та без ЦД 2 типу може бути обумовлене тим, що ці хворі згідно зі стандартними протоколами лікування ЦД 2 типу одержували лікування препаратами, які корегують ІР. На користь цього свідчать більш низькі показники індексу НОМА у пацієнтів з ЦД 2 типу (відповідно 5,82 [3,96; 10,63] та 3,64 [2,37; 7,75], <0,0001).

Гіперглікемія, яка веде до мікроангіопатії, зменшує кількість капілярів на одиницю площі міокарда, що призводить до ішемії останнього, апоптозу кардіоміоцитів та активації процесів фіброгенезу. Разом з цим Wakasaki H. та співавт. продемонстрували, що підвищення активності β-типу протеїнкінази-С (РКС-β), викликане гіперглікемією, призводить до некрозу міоцитів і фіброзу, яким можна запобігти інгібуванням РКС-β [31].

У ході нашого дослідження було виявлено, що у хворих з СН маркер фіброзу галектин-3 був збільшений в сироватці пацієнтів з підвищеним рівнем інсуліну, ФНП-α та індексу НОМА і мав зворотну кореляцію з величиною співвідношення піко-

вих швидкостей трансмітрального кровоплину (Е/А). Це може свідчити на користь того, що гіперінсулінемія та інсулінорезистентність, які можуть бути наслідком активації прозапальних цитокінів, призводять до фіброзу міокарда, а це, в свою чергу, до діастолічної дисфункції лівого шлуночка. Наявність такого зв'язку може пояснюватися накопиченням кінцевих продуктів глікірування в міокарді [8]. В дослідженнях на тваринах наявність ЦД призводила до посилення експресії генів AGE, збільшення зшивок колагену і фіброзу міокарда [10].

Крім того, за наявності порушення толерантності до глюкози у хворих із СН виявляється тісна кореляційна залежність сироваткового рівня галектину з ФНП. Ця залежність зростає з прогресуванням ІР, що може бути обумовлене зростанням ступеня фіброзу при посиленні запалення та інсулінорезистентності.

ВИСНОВКИ

1. Толерантність до фізичного навантаження та величина ФВ ЛШ знаходяться в прямій залежності від рівня глюкози крові.

2. Рівень галектину-3 прямопропорційно пов'язаний з рівнем інсуліну крові та з діастолічною функцією міокарда. З підвищенням сироваткового рівня галектину зростає вираженість діастолічної дисфункції лівого шлуночка.

3. За наявності порушення толерантності до глюкози у хворих із СН виявляється тісна кореляційна залежність сироваткового рівня галектину з ФНП. Ця залежність зростає з прогресуванням ІР.

Перспективи подальших досліджень

Перспективним є дослідження та аналіз зв'язків між змінами рівнів показників імунного запалення, галектину-3, індексу інсулінорезистентності, параметрів внутрішньосерцевої гемодинаміки при серцевій недостатності різної етіології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Визир В.А., Попов В.В., Копица Н.П. и др. // *Серце і судини*. – 2011. – №2. – С. 108-113.
2. Гайдаєв Ю.О. // *Международ. эндокринол. журн.* – 2009. – №2 (4). – С. 9-14.
3. Драпкина О.М., Гегенава Б.Б. // *Рациональная фармакотерапия в кардиол.* – 2013. – №9 (1). – С. 62-65.
4. Жердьова Н.М. // *Укр. мед. часопис.* – XI/XII 2013. – Вип. 6 (98). – С. 53-54.
5. Рекомендації Асоціації кардіологів України з лікування хронічної серцевої недостатності у дорослих (перегляд 2011 року).
6. Целуйко В.И., Вашакідзе З.С., Мотылевская Т.В. и др. // *Ліки України*. – 2011. – №4 (8). – С. 32-35.
7. Уильямс Г., Пикап Д. *Руководство по диабету*. – М.: МЕДпресс-информ, 2003. – 248 с.
8. Bauters C., Lamblin N., McFadden E.P. et al. // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2003. – Vol. 2. – P. 1-16.
9. Calvier L., Miana M., Reboul P. et al. // *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.* – 2013. – Vol. 33 (1) – P. 67-75.
10. Candido R., Forbes J.M., Thomas M.C. et al. // *Circ Res.* – 2003. – Vol. 92. – P. 785-792.
11. deFilippi C.R., Felker G.M. // *US Cardiol.* – 2010. – Vol. 7. – P. 67-70.
12. Diez J. // *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)*. – 2007. – Vol. 9. – P. 546-550.
13. Dumic J., Dabelic S., Flögel M. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1760. – P. 616-635.
14. Fasshauer M., Paschke R. // *Diabetol.* – Vol. 46 (12). – P. 1594-1603.
15. Gast K.B., Tjeerdema N., Stijnen T. et al. *Insulin resistance and risk of incident cardiovascular events in adults without diabetes: meta-analysis.* // *PLoS ONE* 7, e52036 (2012).
16. Giacco F., Brownlee M. // *Circ. Res.* – 2010. – Vol. 107. – P. 1058-1070.
17. *International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 6th ed. (International Diabetes Federation, 2013).*
18. Jellis C., Wright J., Kennedy D. et al. // *Circulation: Cardiovasc. Imaging.* – 2011. – Vol. 4. – P. 693-702.
19. McAlister F., Berry C., Doughty R.N. et al. // *Eur. Heart J.* – 2012. – Vol. 33. – P. 1750-1757.
20. Melvin R. // *Insulin.* – 2006. – Vol. 1. – P. 22-37.
21. Mehra V.C., Ramgolam V.S., Bender J.R. // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78 (4). – P. 805-818.
22. Owan T.E., Hodge D.O., Herges R.M. et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 355. – P. 251-259.
23. Poornima I.G., Parikh P., Shannon R.P. // *Circ. Res.* – 2006. – Vol. 98. – P. 596.
24. Porter K.E., Turner N.A. // *Pharmacol. Ther.* – 2009. – Vol. 123 (2). – P. 255-278.
25. Ritchie S.A., Ewart M.N., Perry C.G. et al. // *Clinical Sci.* – 2004. – Vol. 107. – P. 519-532.
26. Sangaralingham S.J., Huntley B.K., Martin F.L. et al. // *Hypertens.* – 2011. – Vol. 57. – P. 201-207.
27. Sarwar N., Gao P., Seshasai S.R. et al. // *Lancet.* – 2010. – Vol. 375. – P. 2215-2222.
28. Sarwar N., Sattar N., Gudnason V., Danesh J. // *Eur. Heart J.* – 2007. – Vol. 28 – P. 2491-2497.
29. Strissel K.J., Stancheva Z., Miyoshi H. // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56 (12). – P. 2910-2918.
30. Tabet J.Y., Lopes M.E., Champagne S. et al. // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* – 2002. – Vol. 95 (3). – P. 204-212.
31. Wakasaki H., Koya D., Schoen F.J. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 9320-9325.
32. Wong C., Marwick T.H. // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* – 2007. – Vol. 4. – P. 436-443.
33. Yu Q., Gao F., Ma X.L. // *Cardiovasc. Res.* – 2011. – Vol. 89. – P. 516-524.

РОЛЬ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ У ХВОРИХ ІЗ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ ЗІ ЗБЕРЕЖЕНОЮ СИСТОЛІЧНОЮ ФУНКЦІЄЮ ЛІВОГО ШЛУНОЧКА

Г.В.Болотських, Ю.С.Рудик, С.М.Пивовар

ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т.Малої НАМН України»

Ключові слова: інсулінорезистентність; фактор некрозу пухлин альфа; галектин-3; серцева недостатність зі збереженою систолічною функцією лівого шлуночка; цукровий діабет 2 типу

Вивчені рівні сироваткових ФНО- α , сироваткового Гал-3 у пацієнтів із серцевою недостатністю зі збереженою систолічною функцією на тлі інсулінорезистентності та ЦД 2 типу та без нього та їх зв'язки. Обстежено 72 пацієнтів (39 чоловіків і 33 жінки, середній вік $62,1 \pm 9,2$ років) з СН зі збереженою фракцією викиду лівого шлуночка ішемічного генезу, ФВ ЛШ $> 45\%$, на тлі ІР і ЦД 2 типу. В сироватці крові методом ІФА визначали вміст галектину-3, ФНП- α та інсуліну відповідно до інструкцій виробника. Для оцінки ступеня ІР використовувався гомеостатичний індекс ІР (НОМА-ІР), що розраховувався за формулою: $\text{НОМА-ІР} = \text{глюкоза натще (ммоль/л)} \times \text{інсулін натще (мкЕД/мл)} / 22,5$, після чого залежно від наявності ІР пацієнти були розподілені на три підгрупи.

Статистична обробка даних проводилась за допомогою статистичного пакету SPSS 17.0. При порівнянні вибірок використовували непараметричний критерій Краскела-Уоллеса. Для встановлення взаємозв'язку застосовували багатофакторний кореляційний аналіз з використанням рангового коефіцієнта кореляції Спірмена (r_s). Статистично значущими вважалися відмінності даних і кореляція між даними при $p < 0,05$. У результаті проведеного дослідження було встановлено, що сироваткові концентрації галектину-3, ФНО- α , інсуліну у хворих із СН та ІР були достовірно вищими, ніж у групах хворих із СН без ІР та ЦД та хворих із СН та ЦД ($p < 0,05$, $p < 0,05$ і $p < 0,0001$, відповідно). Встановлена асоціація між рівнем галектину-3 і величиною співвідношення пікових швидкостей трансмітрального кровоплину (Е/А) ($r = -0,272$; $p < 0,05$); пряму залежність з сироватковим рівнем ФНО ($r = 0,610$; $p < 0,001$); з рівнем інсуліну ($r = 0,331$; $p < 0,01$); величиною індексу НОМА ($r = 0,293$; $p < 0,02$). В свою чергу, сироватковий рівень ФНО мав пряму залежність малої сили з індексом НОМА ($r = 0,259$; $p < 0,05$). Також виявлені достовірні взаємозв'язки рівня Гал-3 з сироватковими рівнями ФНО у групі хворих із СН на тлі ІР та СН на тлі ЦД, проведено пошук вірогідності різниці сил зв'язку. Аналіз продемонстрував, що сила зв'язку сироваткового рівня ФНО з галектином зростає від хворих з ІР ($r = 0,520$) до пацієнтів із ЦД ($r = 0,709$) ($p_{rr} < 0,05$).

РОЛЬ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СОХРАНЕННОЙ СИСТОЛИЧЕСКОЙ ФУНКЦИЕЙ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

А.В.Болотских, Ю.С.Рудик, С.Н.Пивовар

ГУ «Национальный институт терапии им. Л.Т.Малой НАМН Украины»

Ключевые слова: инсулинорезистентность; фактор некроза опухолей альфа; галектин-3; сердечная недостаточность с сохраненной систолической функцией левого желудочка; сахарный диабет 2 типа

Изучены уровни сывороточных ФНО- α и Гал-3 у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной систолической функцией на фоне ИР и СД 2 типа и без него, а также их связи. Обследовано 72 пациента (39 мужчин и 33 женщины, средний возраст $62,1 \pm 9,2$ лет) с СН и сохраненной фракцией выброса левого желудочка ишемического генеза, ФВ ЛЖ $>45\%$, на фоне ИР и СД 2 типа. В сыворотке крови методом ИФА определяли содержание галектина-3, ФНО- α и инсулина в соответствии с инструкциями изготовителя. Для оценки степени инсулинорезистентности использовался гомеостатический индекс ИР (НОМА-IR), рассчитываемый по формуле: $\text{НОМА-IR} = \text{глюкоза натощак (ммоль/л)} \times \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} / 22,5$, после чего в зависимости от наличия ИР пациенты были распределены на три подгруппы. Статистическая обработка проводилась при помощи статистического пакета SPSS 17.0. При сравнении выборок использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллеса. Для установления взаимосвязи применяли многофакторный корреляционный анализ с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена (r_s). Статистически значимыми считались различия данных и корреляция между данными при $p < 0,05$. В результате проведенного исследования было установлено, что сывороточные концентрации галектина-3, ФНО- α и инсулина у больных с СН и ИР были достоверно выше, чем в группах больных с СН без ИР и СД и больных с СН и СД ($p < 0,05$, $p < 0,05$ и $p < 0,0001$, соответственно). Установлена ассоциация между уровнем галектина-3 и величиной соотношения пиковых скоростей трансмітрального кровотока (Е/А) ($r = -0,272$, $p < 0,05$); сывороточным уровнем ФНО- α ($r = 0,610$, $p < 0,001$); уровнем инсулина ($r = 0,331$, $p < 0,01$); величиной индекса НОМА ($r = 0,293$, $p < 0,02$). Также выявлены достоверные взаимосвязи уровня Гал-3 с сывороточными уровнями ФНО- α в группе больных с СН на фоне ИР и СН на фоне СД, проведен поиск достоверности разницы сил связи. Анализ продемонстрировал, что сила связи сывороточного уровня ФНО- α и галектина-3 возрастает от больных с ИР ($r = 0,520$) до пациентов с СД ($r = 0,709$) ($p_{rr} < 0,05$).

Адреса для листування:

61039, м. Харків, пр. Постишева, 2А.

Тел. (57) 370-28-18. E-mail: info@therapy.gov.ua.

ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т.Малої НАМН України»

Надійшла до редакції 09.09.2014 р.

УДК 615:519.076

ВИКОРИСТАННЯ ІМІТАЦІЙНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ОЦІНЮВАННЯ РИЗИКІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ РЕЄСТРАЦІЄЮ ДАНИХ У КЛІНІЧНОМУ ВИПРОБУВАННІ

К.О.Зупанець, К.Л.Ратушна, В.Є.Доброва, О.О.Андреева

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: клінічне випробування; управління ризиками; ключовий показник ризику; якість даних; індивідуальна реєстраційна форма

IMPLEMENTATION OF IMITATION MODELLING FOR QUANTATIVE RISK ASSESSMENT IN CLINICAL TRIAL DATA COLLECTION

К.О.Zupanets, К.Л.Ratushna, V.Ye.Dobrova, O.O.Andreeva

National University of Pharmacy

Key words: clinical trial; risk management; key risk indicator; data quality; CRF

Appropriate data collection is an essential aspect of clinical trial (CT) quality and includes accurate and precise data entered into a case report form (CRF). The paper presents the results of risk assessment and modelling for the data collection process in the trial site. In research 292 CRF were analysed and CRF corrections documentation for 12 CT carried out in Clinical and Diagnostic Centre of the National University of Pharmacy (CDC NPhaU). In order to evaluate the rate of errors made in CRF we proposed a key risk indicator – error coefficient (k_e) with specific intervals of values: optimal (0-3); threatening (3,1-5); critical (more than 5). The model of the error coefficient changes was created by Monte-Carlo method and probability of critical values of the error coefficient was 0.026. The economic consequences for these cases were predicted by modelling on the basis of expert estimates regarding CT project time and required costs. Probability of the maximal project time increase to 4 days was 0.019; probability of maximal additional costs up to 3% of the budget was 0.02. The results obtained indicate the high quality of the data collection process in the CDC NPhaU. The method proposed may be recommended for sponsors for risk-based monitoring implementation, for trial sites preparing to monitoring visits, audits or inspections, for regulatory bodies for planning inspections of trial sites.

Стрімкі темпи розвитку сфери клінічних досліджень в Україні та в світі, зростання їх складності та числа залучених пацієнтів призводять до посилення конкуренції та підвищення вимог щодо якості клінічних випробувань (КВ). Враховуючи одночасне існування чіткого контролю та вимог стосовно часу виконання КВ і доступного бюджету, це робить завдання забезпечення якості клінічних даних дедалі складнішим, що потребує впровадження та інтеграції в систему КВ підходів управління якістю та ризиками [13].

Управління ризиками для якості є одним із сучасних підходів, узгоджених з концепцією управління якістю, впровадження якого є предметом чисельних обговорень серед науковців та спеціалістів у галузі клі-

нічного вивчення лікарських засобів (ЛЗ) [10, 12, 14, 15]. Застосування принципів управління ризиками для якості на етапі клінічної розробки ЛЗ потребує зосередження на основних складових елементах якості КВ – правах, безпеці і благополуччі суб'єктів випробування та якості і повноті отриманих даних [5, 7].

Поруч із забезпеченням захисту прав, безпеки та благополуччя суб'єктів випробування не менш важливою концептуальною складовою якості у КВ є якісні дані, отримані в ході дослідження [2, 11]. Вони представляють собою основу формування достовірних результатів клінічного вивчення досліджуваного лікарського засобу (ДЛЗ), які поруч з даними доклінічних досліджень складають доказову базу ефективності та безпеки та чинять важ-

ливий вплив на успіх результатів експертизи його реєстраційних матеріалів, яка проводиться відповідними регуляторними органами [5]. Зважаючи на це, важливого значення набувають аспекти управління клінічними даними, які дозволяють отримувати під час проведення КВ якісні дані, а також ефективно та результативно координувати роботу з отриманими даними.

Методи і положення концепції ризик-орієнтованого управління дозволяють прогнозувати, виявляти, мінімізувати та усувати ризики, передбачаючи та запобігаючи виникненню серйозних проблем, що покращує якість здійснення процесів управління даними та, як наслідок, якість і достовірність результатів КВ [14]. Саме застосування методології управління ризиками для якості відносно кожного процесу системи управління даними у КВ (СУД КВ) є

важливою складовою успіху імплементації концепції управління якістю та досягнення кінцевої мети – отримання достовірних даних щодо ефективності та безпеки ДЛЗ.

Одним із найважливіших етапів, який докорінно визначає якість результатів КВ, є збір даних у ході дослідження [1, 2]. Цей етап передбачає отримання даних шляхом вимірювання змін в організмі пацієнта/добровольця у відповідь на застосування ДЛЗ та їх реєстрації за допомогою спеціально розробленого інструмента – індивідуальної реєстраційної форми (ІРФ). Серед найважливіших складових, що характеризують якість етапу реєстрації даних, можна виділити правильність і точність даних, внесених до ІРФ, які визначаються їх узгодженістю та збіжністю з відповідними даними в первинній документації [11]. Також важливим аспектом є повнота занесення даних, наявність виправлень та змін до ІРФ, їх відповідність встановленим вимогам, оформлення та зміст журналу помилок та виправлень. Правильність, точність і повнота первинних даних, зареєстрованих у ІРФ, а також відповідність її заповнення вимогам GCP, протоколу та стандартним операційним процедурам (СОП) даного випробування є дуже важливою ланкою забезпечення якості результатів КВ [5]. Значимість цих характеристик зумовлює важливість їх оцінки під час як внутрішнього контролю, який організують та проводять відповідні особи в місці проведення дослідження (МПД), так і зовнішнього, ініційованого регуляторними органами з метою здійснення інспекційної перевірки, або спонсором у складі процедур моніторингу та аудиту.

Найбільш поширеним та практично неминучим ризиком, який важко мінімізувати, є помилки в ІРФ, які підлягають подальшому виправленню під час

верифікації даних із первинною документацією. Невідповідності та ризики, що виникають під час збору даних та заповнення ІРФ, спричиняючи втрату даних, зниження точності та достовірності, а також виникнення системних помилок, чинять неминучий негативний вплив на усі наступні процеси СУД у КВ, що ускладнює їх ідентифікацію та можливість виправлення, а також призводять до зниження якості даних та їх достовірності. Враховуючи взаємозалежність ключових характеристик процесу управління даними КВ – якість, час здійснення та необхідні ресурси, проблеми, які виникли на етапі реєстрації даних у ІРФ, вони можуть призвести до змін у графіку здійснення робіт у ході КВ, потребуючи продовження термінів, зростання витрат коштів та збільшення загального кошторису випробування.

Тому метою нашої роботи стало кількісне оцінювання ризику допущення помилок у ІРФ на МПД та прогнозування його можливих наслідків шляхом імітаційного моделювання.

З огляду на вищезазначене, об'єктом нашого дослідження став процес внесення клінічних даних до ІРФ, який є одним з найважливіших процесів оперування даними та може бути пов'язаний з численними ризиками, що знижують якість даних КВ.

Матеріали та методи

У процесі дослідження ми вивчили матеріали 12 клінічних досліджень біоеквівалентності, що проводились у Клініко-діагностичному центрі Національного фармацевтичного університету (КДЦ НФаУ) за період з 2003 р. по 2013 р. У ході роботи було проаналізовано 292 ІРФ, які мали приблизно однаковий обсяг (27-45 сторінок) та однакову структуру.

Згідно із запропонованою нами моделлю управління ризиками для якості клінічних да-

них, яка була розглянута у попередніх дослідженнях, одним із її етапів є оцінювання ризиків [3, 4]. Оцінювання ризиків включає визначення вірогідності їх виникнення, впливу їх наслідків на якість даних, пріоритизацію та моделювання з метою прогнозування таких ризиків [8, 10]. Застосування імітаційного моделювання ризиків дозволяє об'єктивно оцінити ризики та їх наслідки за допомогою статистичних методів та ретроспективного аналізу даних, суб'єктивних чи експертних оцінок та отримати прогнози щодо ризиків, що сприятиме прийняттю кращих та більш обґрунтованих управлінських рішень [17]. Під час дослідження використовувався метод імітаційного моделювання Монте-Карло, який базується на моделюванні випадкових процесів та побудові статистичних оцінок для величин, що представляють інтерес, але значення яких асоційовано із невизначеністю [9]. Також було використано метод експертних оцінок та методи статистичного аналізу.

Статистичні розрахунки та побудова моделі були здійснені за допомогою програмних пакетів Statistica 10.0 (StatSoft Inc.), Microsoft Excel 2010 (Microsoft Inc.), @Risk 6 (Palisade Corporation).

Результати та їх обговорення

На першому етапі дослідження нами було проведено аналіз структури ІРФ та визначено, що кожна ІРФ складалась з наступних категорій даних: ідентифікаційні дані добровольця, демографічні дані, антропометричні дані, анамнез, відповідність критеріям включення та критеріям невключення, назва призначеного препарату, час і дата проведення клінічних процедур відповідно до умов протоколу, результати інструментальних досліджень, дані фізикального огляду, зареєстровані побічні ре-

акції та побічні явища. Відповідно до кількості залучених добровольців загальне число категорій даних у кожному випробуванні становило 240 або 260.

Наступний етап роботи полягав у вивченні журналів реєстрації виправлень в ІРФ, які є одним із основних документів КВ згідно із Наказом Міністерства охорони здоров'я України №690 від 23.09.2009 р. [6]. У ході вивчення було встановлено, що загальна кількість виправлень у ІРФ склала 84. З 292 проаналізованих ІРФ 66 мали хоча б одне виправлення.

Після здійснення розподілу кількості помилок за категоріями даних, які були зареєстровані в ІРФ, було встановлено, що майже третя частина усіх виправлень (31%) стосувалася неправильної дати та часу проведення клінічних процедур. Значна частина помилок (19%) була допущена при реєстрації результатів інструментальних досліджень і така ж кількість виправлень була здійснена стосовно даних фізикального огляду (рис. 1).

Найменша кількість виправлень стосувалася ідентифікаційних даних добровольця, анамнезу та відповідності критеріям включення та виключення (по 5% відповідно). Жодних виправлень не було здійснено у таких категоріях, як антропометричні дані та зареєстровані побічні реакції та побічні явища.

Наступним етапом роботи була розробка кількісного показника для оцінки частоти помилок та виправлень у ІРФ.

Для оцінювання ризиків процесів управління клінічними даними нами запропоновано використання специфічних ключових показників ризику (КПР) для якості даних, вимірювання яких дозволяє зробити об'єктивну оцінку, та контролю якості виконання процесів управління даними впродовж КВ. Загальна система КПР характеризує кожен з вирішальних аспектів



Рис. 1. Розподіл помилок у ІРФ за категоріями даних

якості даних у КВ та надає змогу отримати кількісно виражену інформацію стосовно впливу кожного з них на достовірність результатів КВ.

Для забезпечення інтерпретації значень КПР необхідно визначити та встановити характеристичні інтервали значень, специфічні для кожного показника, які визначають рівень якості виконання процесу: цільовий або оптимальний, загрозливий та недопустимий. Знаходження значення КПР у недопустимому інтервалі слід асоціювати з суттєвими проблемами стосовно відповідного процесу СУД КВ, що вимагає від залучених сторін невідкладного застосування коригувальних дій та усунення невідповідностей, а також проведення аналізу з виявленням причин зниження якості. У випадку, якщо значення КПР опиняється у загрозовому інтервалі, це свідчить про можливе існування проблем та ризикових ситуацій, які можуть призвести до негативного впливу на процеси управління даними та їх якість із подальшим збільшенням значення КПР та перевищенням ним границі недопустимого інтервалу. Така ситуація також потребує впрова-

дження відповідних заходів, метою яких є вживання запобіжних дій: діагностування процесів, виявлення можливих невідповідностей та причин їх виникнення, мінімізації ризиків для якості даних.

З огляду на вищевикладене для контролю процесу внесення даних до ІРФ пропонуємо використовувати коефіцієнт помилок (k_n), який дозволяє кількісно оцінити частоту помилок у ІРФ. Даний КПР характеризує якість заповнення ІРФ та може використовуватись для моніторингу рівня помилок, що допускаються при переносі даних з первинної медичної документації. Далі була наведена формула розрахунку коефіцієнта помилок, який пропонується обчислювати шляхом нормалізації кількості виправлень у всіх ІРФ випробування за загальною кількістю категорій параметрів даних:

$$k_n = \frac{N_n}{C} \times 100, \quad (1)$$

де: N_n – загальна кількість помилок; C – загальна кількість категорій даних.

Пропонуємо встановити наступні характеристичні інтервали для коефіцієнта помилок у ІРФ: оптимальний (0-3); за-

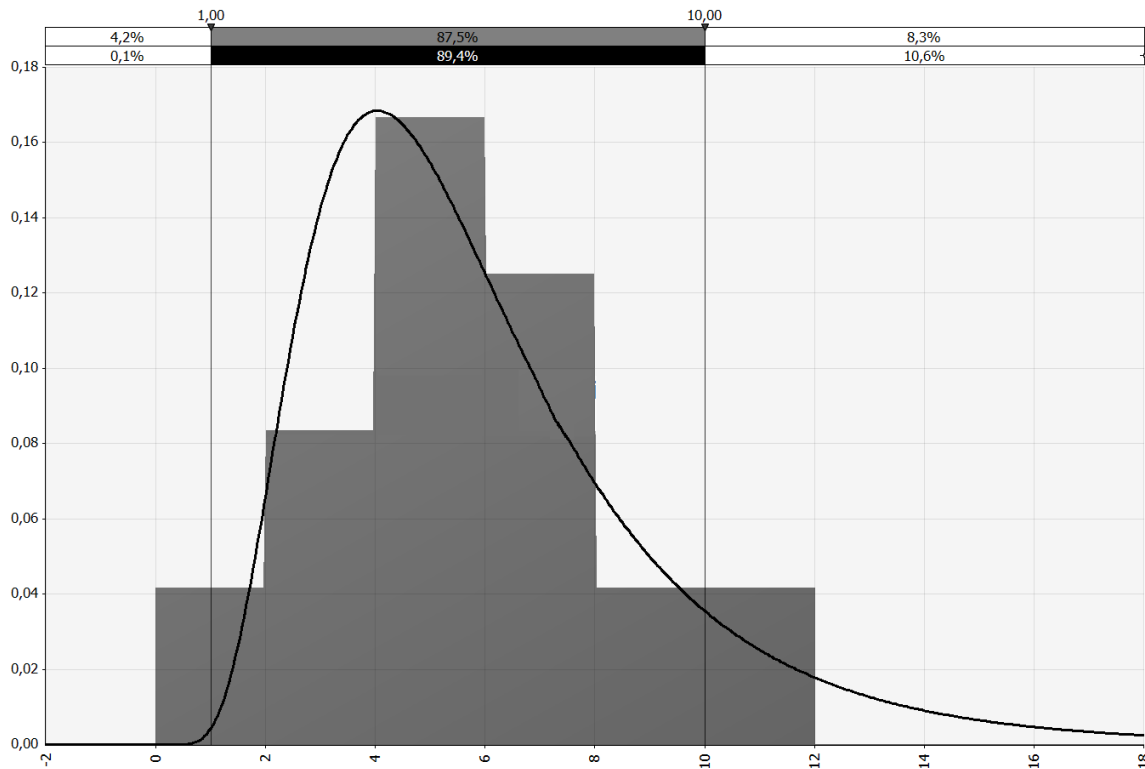


Рис. 2. Гістограма розподілу числа загальної кількості помилок у ІРФ (N_n)

грозливий (3,1-5); недопустимий (більше 5). При цьому 3 та 5 становлять собою порогові значення коефіцієнта помилок, досягнення або перевищення яких мають ініціювати ряд відповідних дій та заходів.

Простий розрахунок коефіцієнта виправлень під час проведення КВ надає можливість оцінити «в режимі реального часу» якість здійснення процесу внесення даних до ІРФ, здійснюючи невідкладне реагування на недопустимі зміни у процесі. Однак, при оцінюванні ризиків може бути недостатньо епізодичних вимірювань, які не надають можливості представити та проаналізувати цілісну картину щодо ризиків у КВ, особливо при плануванні дослідження. Тому для оцінювання ризиків в СУД КВ ми запропонували використовувати імітаційне моделювання за методом Монте-Карло, яке дозволяє прогнозувати досліджувані ризики та їх вплив на успіх дослідницького проекту.

Для створення прогнозованої моделі зміни коефіцієнта помилок були визначені параметри

та функції розподілу величин N_n та C , які знаходяться в умовах невизначеності, для чого були використані дані, отримані в результаті аналізу ІРФ.

Враховуючи загальну кількість виправлень у ІРФ у кожному випробуванні, ми побудували гістограму, що відображає частотний розподіл кількості виправлень (рис. 2). Вказана гістограма дозволяє оцінити параметри розподілу кількості виправлень, які є необхідними для прогнозування величини N_n . Як видно з рис. 2, частота розподілу кількості виправлень є наближеною до логнормального закону розподілу ($\mu=6$; $\sigma=2,7$).

Величина загальної кількості категорій даних у КВ (C) підпорядковується закону розподілу дискретної випадкової величини (мінімальне значення – 240; максимальне значення – 260).

Для здійснення моделювання з достатньою точністю нами було обрано число ітерацій, яке дорівнює 1000 [9].

Згідно з отриманою моделлю зміни коефіцієнта помилок у ІРФ (рис. 3) до оптимального

інтервалу (0-3) потрапило 76,5% прогнозних значень, тобто з імовірністю 0,765 значення коефіцієнта помилок у наступному випробуванні у КДЦ НФаУ буде знаходитись у межах цільового інтервалу.

Частка прогнозованих значень коефіцієнта помилок, яка потрапила до загрозового інтервалу (3-5), склала 20,9%. Відповідно до цього з ймовірністю 0,209 кількість помилок у ІРФ буде допустимою, але достатньо високою, що представляє потенційну загрозу для ефективності та якості процесу внесення даних у ІРФ. У цьому випадку відповідальною особою з питань якості МПД мають бути застосовані відповідні запобіжні дії, спрямовані на виявлення та усунення причин збільшення кількості помилок у ІРФ, наприклад, перегляд СОП, яка регламентує заповнення ІРФ, аналіз роботи персоналу, загального процесу заповнення ІРФ. З боку спонсора під час здійснення моніторингу МПД, для якої значення коефіцієнта помилок є загрозовим, доцільним можуть бути

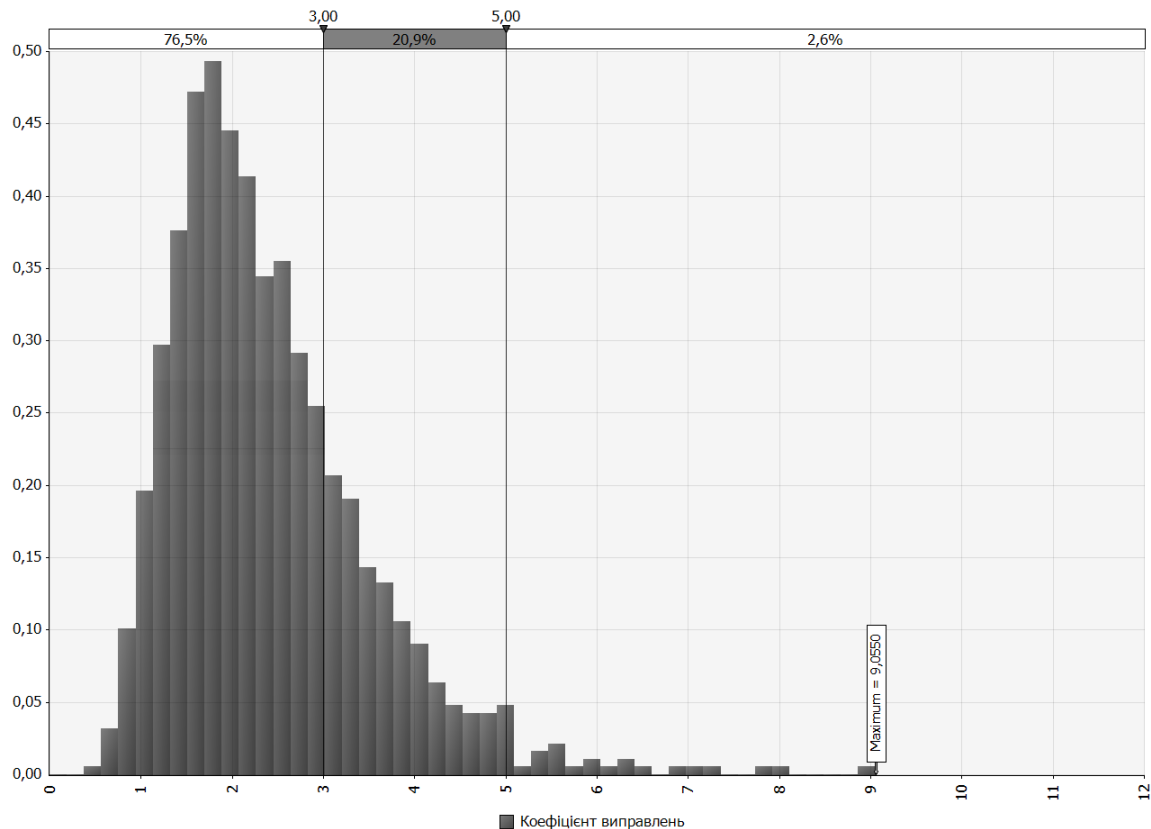


Рис. 3. Моделювання коефіцієнта помилок у ІРФ за методом Монте-Карло

наступні дії: здійснити порівняльну оцінку коефіцієнту помилок відносно інших МПД, зв'язатися з клінічною базою для з'ясування можливих проблем та питань, що виникли, здійснити візит монітора.

Встановлено, що лише 2,6% змодельованих значень коефіцієнта виправлень перевищують межу загрозового інтервалу та є критичними, тобто ймовірність того, що коефіцієнт помилок перевищить допустимі значення, складає 0,026. Така ситуація потребуватиме невідкладного реагування, адже у цьому випадку існуватиме негативний вплив на якість процесів оперування клінічними даними. При перевищенні коефіцієнтом помилок значення 5 від МПД невідкладно вимагається вживання корегувальних дій, наприклад, впровадження поглибленого контролю шляхом додаткової перевірки занесених до ІРФ даних. В межах здійснення моніторингу спонсор, отримуючи інформацію про перевищен-

ня коефіцієнтом помилок критичного значення у даному МПД, може ініціювати візит монітора на клінічну базу, проведення 100% верифікації даних, занесених на той час до ІРФ, перегляд СОПів та перевірку їх знання та виконання персоналом, здійснення додаткового тренінгу із заповнення ІРФ тощо.

За допомогою запропонованої прогнозової моделі нами також було проведено оцінку можливих економічних наслідків ситуації, коли коефіцієнт помилок перевищує встановлену допустиму межу ($k_n > 5$), ймовірність реалізації якої становить 0,026. З метою визначення вихідних даних для здійснення розрахунків та моделювання за участі вузької групи експертів – спеціалістів з КВ було здійснено попередню оцінку часу, який витрачається на виправлення помилок у ІРФ, та фінансових втрат внаслідок ініціювання незапланованих робіт з додаткового контролю та корегування невідповідностей. За думкою ек-

пертів кожне збільшення коефіцієнта помилок на 0,5 зверх недопустимого значення (більше ніж 5) потребуватиме подовження терміну виконання процесу оперування даними від 1 до 2 днів, а збільшення витрат КВ – на 0,5%-2%. Враховуючи ці дані, ми побудували моделі, які відображають імовірність подовження терміну виконання КВ та імовірність збільшення витрат на дослідження (рис. 4, 5).

Відповідно до результатів моделювання, представлених на рис. 4, із загальних 2,6% випадків, у яких коефіцієнт помилок перевищує 5, ймовірність подовження термінів виконання КВ до 1 дня складає 0,009, від 1 до 2 днів складає 0,004, від 2 до 3 днів – 0,003, від 3 до 4 днів – 0,003, більше, ніж на 4 дні – 0,007. На наш погляд ризиком зростання витрат КВ більше, ніж на 4 дні можна знехтувати, враховуючи дуже низьку ймовірність (0,007).

Імовірність виникнення додаткових витрат на проведен-

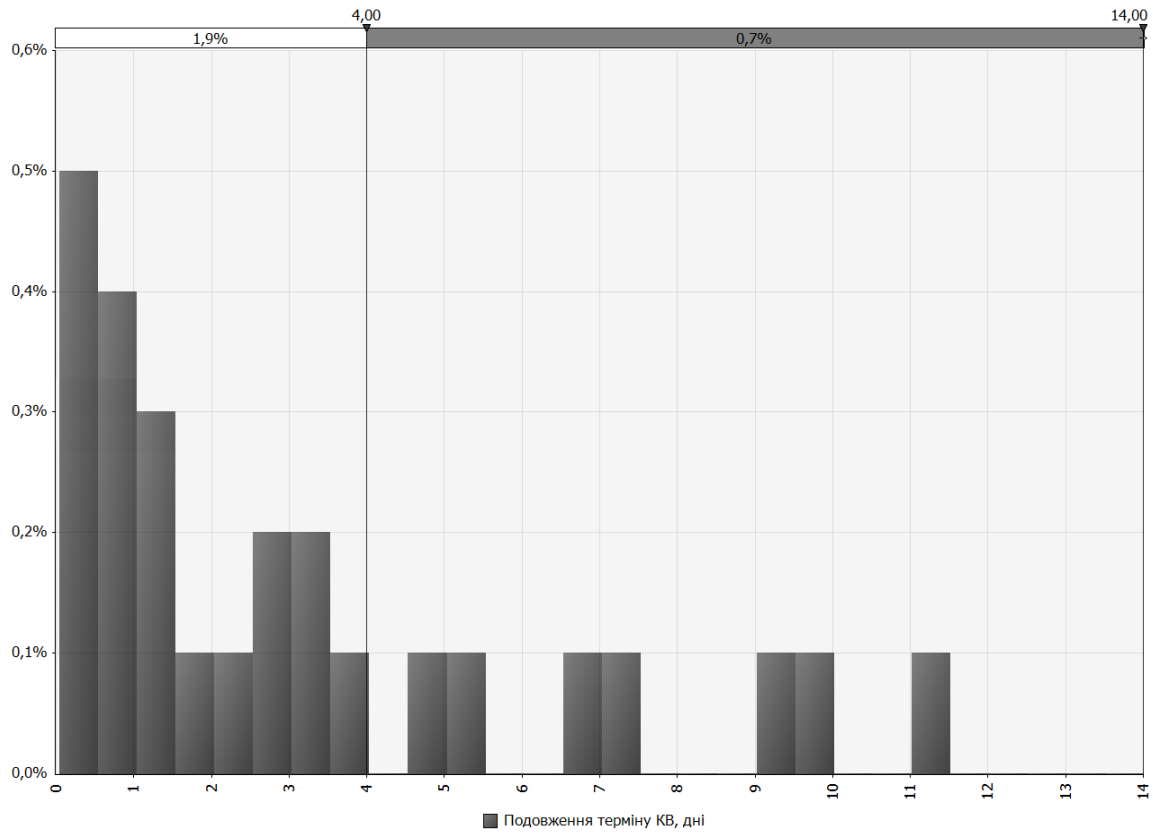


Рис. 4. Моделювання подовження терміну виконання проекту КВ (при $k_n > 5$)

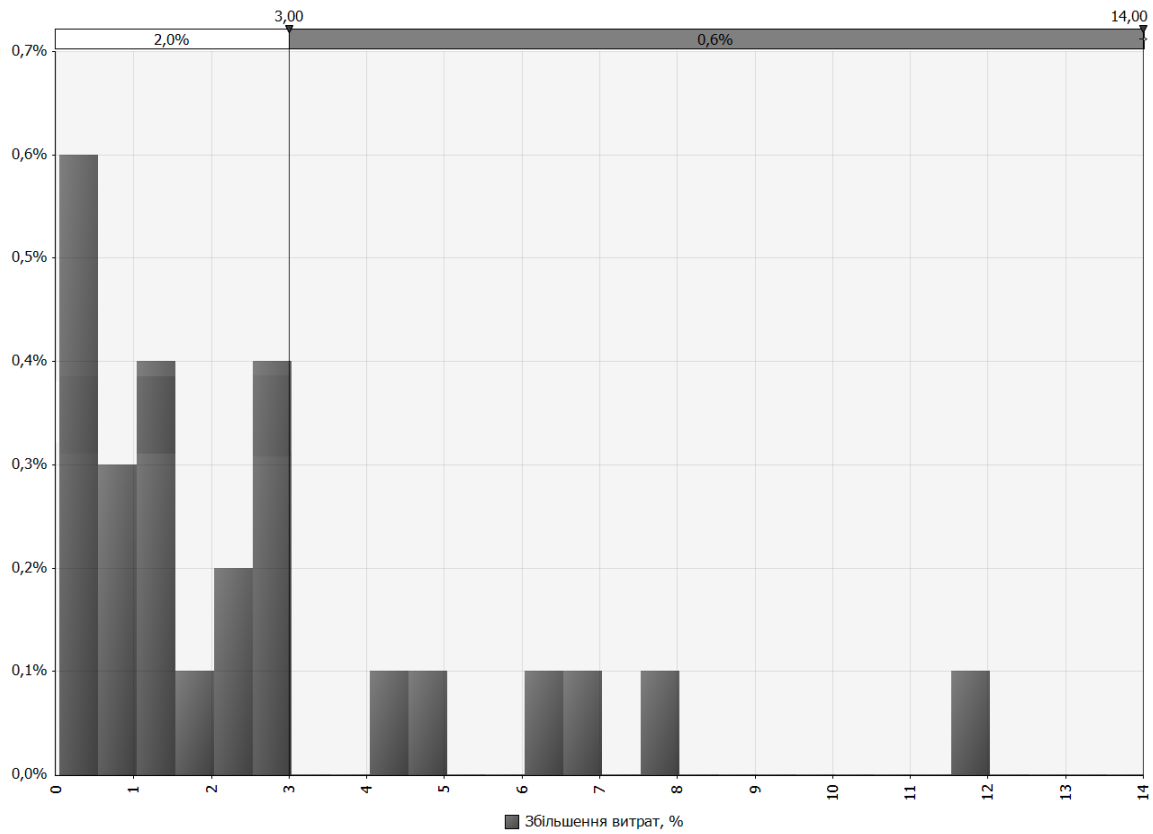


Рис. 5. Моделювання збільшення витрат КВ (при $k_n > 5$)

ня КВ у розмірі до 1% від загального кошторису складати-ме 0,009, від 1% до 2% – 0,005, від 2% до 3% – 0,006, більше, ніж на 3% – 0,006. На наш погляд ризиком зростання витрат КВ більше, ніж на 3% можна знехтувати, враховуючи дуже низьку ймовірність (0,006).

Спираючись на результати моделювання наслідків для термінів проекту та фінансових наслідків, до яких може призвести відхилення від встановлених вимог щодо якості заповнення ІРФ, можна підбити підсумок, що ймовірність подовження проекту на термін до 4 днів складає 0,019, виникнення додаткових витрат у розмірі до 3% від основного кошторису випробування складає 0,02.

ВИСНОВКИ

Згідно з принципами управління якістю та управління ризиками для якості нами було досліджено процес реєстрації даних у ІРФ, який становить собою одну з найважливіших складових СУД КВ, невід'ємну ланку побудови системи якості КВ та критично важливий процес для забезпечення достовірності та цілісності даних. Для кількісного оцінювання, контролю та моделювання ризику, асоційованого з даним процесом, було розроблено КПР коефіцієнт помилок k_n , який характеризує якість заповнення ІРФ. Використовуючи дані, отримані в результаті аналізу ІРФ у Клініко-діагностичному центрі Національного фармацевтичного уні-

верситету (КДЦ НФаУ), було здійснено прогнозування зміни коефіцієнта помилок. На основі створеної прогнозовної моделі були проаналізовані подальші фінансові наслідки проблем, пов'язаних із помилками при реєстрації даних, а також їх вплив на відповідність вимогам щодо термінів здійснення процесів випробування.

Результати дослідження дозволяють зробити висновок, що ймовірність перевищення значенням коефіцієнта помилок максимально допустимої величини складає загалом 2,6%. Вважаємо цю величину, яка знаходиться в межах допустимої похибки (до 5%), достатньо низькою, що свідчить про високий рівень якості здійснення процесу внесення даних у ІРФ у КДЦ НФаУ. За результатами досліджень було ініційовано додаткове навчання персоналу, перегляд СОПів та їх удосконалення. Крім того, створені методичні рекомендації з розробки СОПів та заплановані дії з подальшого оцінювання ризиків.

Оцінка економічних наслідків реалізації цих ризиків, а також наслідків щодо дотримання термінів КВ дозволяє вважати їх прийнятними. Перевищення коефіцієнтом помилок допустимого значення може спричинити подовження КВ до 4 днів, що складає 0,019, ризик виникнення додаткових витрат у розмірі до 3% від основного кошторису випробування складає 0,02. Кількісний показник «коефіці-

єнт помилок», запропонований у даному дослідженні, має стати складовою єдиної системи КПР, що дозволить вимірювати ризики для кожного процесу, критично важливого для якості даних, і стане незамінним засобом для здійснення багатьох видів контролю роботи МПД.

Здійснюючи віддалений моніторинг із використанням системи попередньо розроблених КПР, спонсор може оцінювати ризики на МПД в режимі «реального часу», що дозволяє швидко реагувати та застосовувати відповідні запобіжні дії. Саме такий підхід забезпечує зосередження на найбільш імовірних та значущих ризиках, які стосуються процесів, критично важливих для якості даних. До того ж, врахування КПР дає спонсору змогу розробляти план моніторингу, направлений на найбільш важливі ризики, та визначати частоту, обсяг та зміст моніторингу відповідно до результатів оцінювання ризиків.

Використання специфічних КПР під час самоконтролю на МПД або підготовки до моніторингу, інспекції чи аудиту забезпечить безперервне покращення процесів КВ на МПД завдяки реалізації принципу «зворотного зв'язку».

Також запропонована методика розрахунку та прогнозування коефіцієнта помилок може бути рекомендована для використання під час планування та проведення інспекцій МПД регуляторними органами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Добрава В.Є., Зупанець І.А. // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. – 2011. – №3 (17). – С. 17-22.
2. Добрава В.Є., Зупанець І.А., Мороз А.М. та ін. *Методологічні принципи організації системи управління даними у клінічних випробуваннях: Метод. рекомен.* – Х.: ФОП Петров В.В., 2012. – 36 с.
3. Добрава В.Є., Зупанець К.О., Ратушна К.Л. та ін. // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. – 2013. – №5 (31). – С. 16-23.
4. Добрава В.Є., Зупанець К.О., Ратушна К.Л. // *Клінічна фармація*. – 2014. – Т. 18, №1. – С. 4-10.
5. *Клинические испытания лекарств / Под ред. В.И.Мальцева, Т.И.Ефимцевой, Ю.Б.Белоусова и др.* – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: МОРИОН, 2006. – 456 с.

6. Наказ Міністерства охорони здоров'я України №690 від 23.09.2009 «Порядок проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань. – Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z1010-09>.
7. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.0:2008 Лікарські засоби. Належна клінічна практика. – К., 2009. – 67 с.
8. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011 Лікарські засоби. Управління ризиками для якості. – К., 2011. – 26 с.
9. Паньгина Н.Н., Паньгин А.А. // Компьютерные инструменты в образовании. – 2002. – №5. – С. 30-43.
10. Alemayehu D., Alvir J., Chappell P.B. et al. // Applied Clinical Trials. – 2012. – Vol. 5. – P. 15-16.
11. Assuring Data Quality and Validity in Clinical Trials for Regulatory Decision Making; Workshop Report / Davis J.R., Nolan V.P., Woodcock J., Estabrook R.W. – Roundtable on Research and Development of Drugs, Biologics, and Medical Devices, Institute of Medicine. – Режим доступу: <http://www.nap.edu/catalog/9623.html>
12. Brosteanu O., Houben P., Ihrig K. et al. // Clinical Trials. – 2009. – Vol. 6. – P. 585-596.
13. Djali S., Janssens S., Yper S. // Drug Information J. – 2010. – Vol. 44. – P. 359-373.
14. European Medicine Agency. Reflection paper on risk based management in clinical trials. – Режим доступу: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500110059.pdf
15. Gregg H. Claycamp // Drug Information J. – 2007. – Vol. 41. – P. 353-367.
16. MRC/DH/MHRA joint project; Risk-adapted Approaches to the Management of Clinical Trials of Investigational Medicinal. – Режим доступу: <http://www.mhra.gov.uk/Howweregulate/Medicines/Licensingofmedicines/Clinicaltrials/index.html>
17. Robinson M., Cook S. Clinical Trial Risk Management. – Boca Raton: Francis and Taylor, 2006. – 211 p.
18. Rosenberg M.J. // Therapeutic Innovation and Regulatory Sci. – №48 (4). – P. 428-435.
19. Sax A., Keegan M., White D. et al. // J. for Clinical Studies. – 2012. – Vol. 4 (5). – P. 26-33.

ВИКОРИСТАННЯ ІМІТАЦІЙНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ОЦІНЮВАННЯ РИЗИКІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ РЕЄСТРАЦІЄЮ ДАНИХ У КЛІНІЧНОМУ ВИПРОБУВАННІ

К.О.Зупанець, К.Л.Ратушна, В.Є.Доброва, О.О.Андрєєва

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: клінічне випробування; управління ризиками; ключовий показник ризику; якість даних; індивідуальна реєстраційна форма

Важливим аспектом якості клінічних випробувань (КВ) є належна реєстрація даних, однією із складових якої є правильні та точні дані, внесені до індивідуальної реєстраційної форми (ІРФ) пацієнта/добровольця. Представлені результати оцінювання та моделювання ризиків для процесу внесення даних до ІРФ на місці проведення дослідження (МПД). У ході дослідження проаналізовані 292 ІРФ та вивчені журнали помилок та виправлень у ІРФ з 12 КВ, проведених у Клініко-діагностичному центрі Національного фармацевтичного університету (КДЦ НФаУ). Для оцінювання частоти помилок та виправлень у ІРФ запропоновано використання ключового показника ризику – коефіцієнта помилок (k_n) та встановлені характеристичні інтервали його значень: оптимальний (0-3); загрозовий (3,1-5); недопустимий (більше 5). Використовуючи метод Монте-Карло побудовано прогнозну модель зміни коефіцієнта помилок, за якою визначено, що ймовірність перевищення межі загрозового інтервалу складає лише 0,026. Для цієї ситуації створено модель економічних наслідків з використанням даних стосовно можливого подовження терміну КВ та збільшення витрат, отриманих шляхом експертної оцінки. Ймовірність подовження проекту на максимальний термін до 4 днів складає 0,019, виникнення додаткових витрат у розмірі до 3% від основного кошторису випробування складає 0,02. Отримані результати свідчать про високий рівень якості процесу внесення даних у ІРФ у КДЦ НФаУ. Запропонована методика може бути рекомендована для здійснення моніторингу з боку спонсора, самоконтролю МПД та використана при підготовці до візитів монітора, інспекцій чи аудитів, а також для планування та проведення інспекцій МПД регуляторними органами.

ПРИМЕНЕНИЕ ИМИТАЦИОННОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОЦЕНИВАНИЯ РИСКОВ, СВЯЗАННЫХ С РЕГИСТРАЦИЕЙ ДАННЫХ В КЛИНИЧЕСКОМ ИСПЫТАНИИ

Е.А.Зупанец, К.Л.Ратушная, В.Е.Доброва, Е.А.Андреева

Национальный фармацевтический университет

Ключевые слова: клиническое исследование; управление рисками; ключевой показатель риска; качество данных; индивидуальная регистрационная форма

Важным аспектом качества клинических исследований (КИ) является надлежащая регистрация данных, которая предполагает внесение в индивидуальную регистрационную карту (ИРК) пациента/добровольца правильных и точных данных. Изложены результаты оценки и моделирования рисков для процесса внесения данных в ИРК в исследовательском центре (ИЦ). В ходе работы был проведен анализ 292 ИРК и изучены журналы ошибок

и исправлений в ИРК для 12 КИ, которые проводились в Клинико-диагностическом центре Национального фармацевтического университета (КДЦ НФаУ). Для оценки частоты ошибок, допущенных в ИРК, было предложено использование ключевого показателя риска – коэффициента ошибок (k_n) и установлены характеристические интервалы его значений: оптимальный (0-3); угрожающий (3,1-5); недопустимый (больше 5). Используя метод Монте-Карло, мы построили прогнозную модель изменения коэффициента ошибок, с помощью которой было установлено, что вероятность превышения коэффициентом ошибок границы угрожающего интервала составляет всего 0,026. Для этой ситуации была создана модель экономических последствий с использованием данных относительно возможного удлинения КИ и увеличения расходов, полученных путем экспертной оценки. Вероятность удлинения сроков проекта исследования на максимальный срок до 4 дней составила 0,019, а вероятность возникновения дополнительных затрат в максимальном размере до 3% от основного бюджета составила 0,02. Полученные результаты свидетельствуют о высоком уровне качества процесса внесения данных в ИРК в КДЦ НФаУ. Предложенная методика может быть рекомендована для осуществления спонсором мониторинга, самоконтроля ИЦ при подготовке к визитам монитора, к инспекциям или аудитам, а также для планирования и проведения инспекций ИЦ регуляторными органами.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Тел. (57) 706-30-72. E-mail: dobrova_vika@mail.ru.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 16.09.2014 р.

РЕЦЕНЗІЯ
«Хронофармакологія наглядно (хронофармакологія в таблицях и рисунках): Справочник-учебное пособие / С.М.Дроговоз, С.И.Рапопорт, А.В.Кононенко и др. – Х.: Титул, 2014. – 128 с.

Початок 2014 року, ознаменований своєчасною, приємною і важливою подією – у світ вийшло унікальне видання «Хронофармакологія наглядно» / Под ред. С.М.Дроговоз, яке вкрай необхідне як студенту, інтерну, лікарю, провізору, так і викладачу.

До складу авторського колективу увійшли як знані широкому загалу фахівці Національного фармацевтичного університету, так і відомі науковці Російської Федерації (проф. С.І.Рапопорт).

Оригінальний дизайн довідника, продумана і логічно викладена щодо клінічного спрямування інформація скерована на розкриття основних принципів ритмічності біологічних систем та їх корекції.

Перед авторами постало дуже складне і відповідальне завдання зібрати і узагальнити «розпорошені» відомості про величезну кількість лікарських засобів, які використовуються в медицині за традиційною схемою «по одній таблетці тричі на день». У медичних закладах ліки призначають без врахування добового ритму, здебільшого використовується усталена схема, хоча і спрямована на індивідуальний підхід до пацієнта.

У першому розділі «Общая хронокология (азбука хронофармакологии)» викладені загальні відомості щодо хроноперіодики, наведені різні спектри періодичності ритмічних функцій людини. З залученням новітніх відомостей науково обґрунтовані механізми виникнення біологічних ритмів. Навчальний посібник-довідник не передбачає викладення у всіх деталях хроноперіодичної системи організму.

Але до честі авторів, вони досягли мети – стисло і науково обґрунтовано донесли до читача формування ритмічності процесів, місця і ролі окремих синхронізаторів, участі чинників зовнішнього середовища тощо.

Описані причини порушення пристосувальних реакцій у відповідь на відхилення в біологічних ритмах з розвитком явищ десинхронозу. Розкриттям різних чинників, що спричиняють порушення ритму, автори скеровують логіку читача в необхідності хронодіагностики для виявлення початкових стадій десинхронозів, обґрунтовують різні методи хронобіологічних досліджень, стисло викладають основні параметри біоритмів.

Заслужує на високу оцінку досить повне викладення переваг хронофармакології.

Загальний підсумок цього розділу полягає в наступному: хронофармакологія, що вивчає вплив лікарських засобів на біологічні ритми організму і їх ефективність залежно від часу введення, є основою хронотерапії – напрямку медицини, скерованому на лікування хворих з урахуванням хронобіологічних закономірностей.

Такий підхід знайшов повне віддзеркалення у другому розділі рецензованої книги «Частная хронофармакология». Чітко продуманий стиль викладення матеріалу: ритми за фізіологічних умов (запроваджену авторами дефініцію «норморитм» вважаємо невдалим терміном), десинхронози і відповідна хроноterapia дозволяють зберегти єдину лінію при розгляді формування відповідної патології. Характеристика біоритму кожної функціональної системи завершується дуже цінним, змістовним і аргументованим застереженням: «Лікарю і провізоре, пам'ятай!». З висоти професійного досвіду фармаколога, клініциста, хронобіолога – автори навчального керівництва пропонують, радять доцільність поєднання і застерігають несумісність лікарських засобів при виконанні хронотерапевтичного підходу.

Немає необхідності рецензувати особливості призначення певних лікарських форм при тій чи іншій патології систем органів. Все чітко продумано і логічно викладено, тому варто впроваджувати його у клінічну практику.

Вважаємо за необхідне при підготовці до видання підручників з фармакології та клінічних дисциплін запровадити розділи «Хронофармакологія» та «Хроноterapia». Від цього буде користь і тим, хто вчиться, і тим, хто лікує. У всякому разі перший і вагомий крок зроблено, тільки б не зупинитися.

Цінним доповненням викладеного матеріалу є додатки: оптимальний час уведення ліків (дод. 1), акрофази фізіологічних процесів людини (дод. 2). Неабияку зацікавленість викличе у читача дод. 3 «Орієнтувальна схема хроноселективності дії ліків». Алфавітний покажчик препаратів та перелік фармакологічних груп є цінним доповненням до викладеного матеріалу.

Допоможе у пошуку літературних джерел в напрямку «Хронофармакологія» досить повний і переважно останніх років список використаної літератури.

Книга написана цікаво, змістовно, носить виховний характер, – присвячена видатній особистості Д.П.Сало – засновнику і організатору Національного фармацевтичного університету, бо і справді «Згадуйте предків своїх, щоб золоті нитки не згубить, і щоб сторінки історії перед вами не згасли».

Шкода, що обмежений тираж довідника-посібника вже сьогодні робить видання бібліографічною рідкістю, хоча воно має бути чи не у кожного лікаря.

Можна щиро привітати всіх авторів і, зокрема, С.М.Дроговоз і С.І.Рапопорта з прекрасним, цінним і вкрай необхідним навчальним виданням.

*Чл.-кор. НАПН України, професор В. П. Пішак,
м. Чернівці (Буковинський медуніверситет)*

Доклінічні дослідження



УДК 616.314.17-008.1-053.1-005-085.831.2-085.849.19

ПІДХОДИ ДО ВИКОРИСТАННЯ КРИСТАЛООПТИЧНОГО МЕТОДУ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

О.В.Гармаш, Є.М.Рябоконт, Є.К.Гармаш*

Харківський національний медичний університет
Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна*

Ключові слова: ротова рідина; кристалоутворювальна здатність; зубощелепна система; низькоінтенсивне світлове випромінювання

APPROACHES FOR USING OF THE CRYSTAL OPTIC METHOD IN THE STUDY OF BIOLOGICAL FLUIDS

O.V.Garmash, Ye.M.Ryabokon, Ye.K.Garmash*

Kharkov National Medical University, V.N.Karazin Kharkiv National University*

Key words: oral fluid; crystal-forming ability; dentofacial system; low-intensity light

The article contains the summarized results of using the crystal optic method for studying biological fluids (in particular, oral fluid) with the purpose of diagnostics of pathological processes of the patient's oral cavity, including the preclinical stage of development of the pathological process. The results of the study of changes in the crystal-forming ability of the oral fluid and its facies morphological pattern in patients when affecting therapeutically on the periodontal tissue with low-intensity light are presented. The effects of the prevention course for two types of radiation – polarized polychromatic and monochromatic red – have been compared. A positive dynamics of the facies morphological pattern and disappearance of pathological states markers, which may indicate the beneficial effect of low-intensity light on the periodontal condition, has been found. Recommendations on applying of a preventive remedy depending on the crystal-forming properties of the oral fluid are given. As the result of analysis of modern literature, it has been shown that the analysis of the morphological picture of the oral cavity fascias can be used as a specific marker to determine if it is expedient to use a particular type of preventive methods of microcirculatory disorders of the maxillofacial tissues and as a grounding of using preventive measures and estimation of their effectiveness.

У зв'язку з подальшим впровадженням у загальну медичну практику основних постулатів доказової медицини дослідники звернулися до пошуку простого клініко-лабораторного методу, який характеризував би морфофункціональний стан зубощелепної системи. У якості такого якісно-кількісного методу був запропонований метод клиноподібної дегідратації [23]. На думку Тарасевича Ю.Ю. на сьогоднішній день виявлена залежність між видом кристалопризматичних структур, які спостерігаються при висушуванні різних біологічних рідин, і «патологічним процесом» [20]. Також відомо, що кристалографічна картина «норми» не залежить від віку та статі людини [15, 17].

Кристалооптичний (КО) метод дослідження широко вико-

ристовується як для встановлення діагнозу, так і в якості додаткового до інших діагностичних методів. Суть його полягає в аналізі фігур, які утворюються при висушуванні різних біологічних рідин унаслідок процесів кристалізації [9, 15].

Фація (висушена крапля) ротової рідини здорової людини складається з трьох зон – центральної (сольової, або зони кристалічних структур), проміжної (зони білково-сольових структур) і периферійної (білкової, аморфної) [19]. Спостерігається різне співвідношення площі цих зон. Проміжна зона чітко виражена при використанні в якості біологічної рідини сироватки крові, у разі використання інших біологічних рідин проміжна зона практично відсутня [20].

Разумова С.Н. та співавт. [13] виділяють три типи морфоло-

гічної картини ротової рідини (РР) у осіб із природною санацією та санованих – залежно від співвідношення площі органічного (периферійної зони) та мінерального (центральної зони) компонентів. Для найменшої частки органічної складової встановлюється I тип морфологічної картини, для максимальної – III тип. У результаті проведених досліджень було виявлено, що маркером здорового пародонта (природна санація) можна вважати I тип морфологічної картини РР з максимальною площею, зайнятою кристалами солей у фації, отриманій відразу після сну. Також доведено, що у санованих пацієнтів частка органічного компоненту в РР вища у порівнянні з пацієнтами з природною санацією. На думку Барер Г.М. та співавт. [1] оцінювання морфології кристалограм можна проводити тільки в центрі кристалізації. За останні роки ними була розроблена та уніфікована методика вивчення та оцінювання фігур кристалізації слини.

О.В.Гармаш – канд. мед. наук, асистент кафедри терапевтичної стоматології Харківського національного медичного університету

Є.К.Гармаш – студент 6 курсу медичного факультету Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна

Перший варіант класифікації кристалоутворювальних властивостей РР був запропонований Леусом П.А. Дослідник описав деревоподібну структуру кристалів, що розташовуються в центрі сухої краплі слини осіб із карієсрезистентними твердими тканинами зубів. Структура кристалів, представлена тонкою сіточкою, розташованою по всій площі краплі або по її периферії, на думку автора, відповідала низькій карієсрезистентності [7]. Пізніше попередня класифікація була доповнена ще двома типами кристалів. На теперішній час найбільш поширена 6-бальна оцінка кристалопризматичних структур у сольовій зоні фації. Згідно з класифікацією, викладеною в роботі [2], для картини мікрокристалізації РР в «нормі» характерний чіткий рисунок великих кристалопризматичних структур, що йдуть від центру краплі і які зрощені між собою та мають деревоподібну або папоротеподібну форму (картина оцінюється в 5 балів). При оцінюванні результатів мікрокристалізації РР за умов впливу різних несприятливих факторів відзначається руйнування чіткої структури кристалів. Виявляються такі типи: рисунок великих кристалопризматичних структур, зрощених між собою в довільному порядку (4 бали); у центрі краплі спостерігаються окремі кристали зірчастої форми, по периферії збережені укрупнені деревоподібні кристали (3 бали); окремі кристали у вигляді прута або гілочки розташовані по всьому полю (2 бали); по всій площі краплі велика кількість ізометрично розташованих кристалічних структур зірчастої, округлої і неправильної форми (1 бал); повна відсутність кристалів у полі зору (0 балів).

Відомо, що в осіб із карієсрезистентною емаллю преvalюють типи мікрокристалізації, які оцінюються в 4-5 балів, і навпаки, при високій інтенсив-

ності каріозного процесу частіше зустрічаються типи фацій із меншою оцінкою [11, 16, 18, 26]. Але існують дослідження, результати яких за певних умов свідчать про відсутність такої кореляції. Зокрема, в роботі [22] на основі даних для Донецького регіону автор повідомляє, що не було виявлено суттєвих відмінностей у кристалоутворювальних властивостях РР школярів із різною карієсрезистентністю (різними значеннями індексу КІВ). Причиною низьких мінералізуючих властивостей РР у дітей м. Донецька науковець вважає значне підкислення середовища порожнини рота (приблизно у 80% РР має кислу реакцію). На його думку це зумовлює зниження перенасиченості слини іонами Ca^{2+} і HPO_4^{2-} , наслідком чого і можуть бути її низькі кристалоутворювальні властивості.

Для визначення стану організму недостатньо оцінювання структури кристалів тільки в центральній зоні фації. На думку низки авторів [25] найбільш важливу інформацію можна отримати, якщо оцінювати периферійну (органічну) частину фації. У роботах [14, 17, 25] описані маркери різних патологічних станів. До них були віднесені: маркер інтоксикаційного процесу – токсичні бляшки і складки білкової зони фації; маркер інтоксикаційного процесу – ділянки інтенсивної пігментації у проміжній і крайовій зонах фації; маркер застійних явищ і порушення мікроциркуляції – множинні трипроменеві тріщини білкової зони фації; маркер деструкції слизової оболонки порожнини рота – складчастість білкової зони фації; маркер атрофічного процесу слизової оболонки порожнини рота – широкі ламані тріщини в білковій зоні фації; маркер карієсу – феномен патологічної кристалізації солей у білковій зоні фації; маркер напруженості адаптаційних механізмів гомеостазу – тріщи-

ни-«закрутки»; маркер гіпоксичних і ішемічних процесів у тканинах – «джгутіві» структури; маркер ангіоспазму і порушення мікроциркуляції – «гребінцеві» структури; маркер порушення мікроциркуляції та ангіоспазму або маркер метаболічних порушень в організмі – «багатоярусність» фації або «подвійна фація». У деяких випадках в одній фації можна виявити декілька маркерів патологічних станів. Вважається, що згадані маркери мають подібні структурні характеристики в різних біологічних рідинах, саме тому це робить можливим використання КО методу при різних видах патології. У літературі відсутній однозначний зв'язок між патологією і конкретним маркером. Тому, зазвичай, розглядають комбінацію декількох маркерів.

У роботі Шаповалової О.Г. [24] стверджується, що в осіб без патології пародонта, санованих або з природною санацією, кристалограми стають більш прозорими в міру віддалення від центру, а також присутній чіткий розподіл на центральну і периферійну зони. При патології прозорість кристалограми зменшується при віддаленні від центру або рисунок на всій площі фації практично однорідний.

Розробити автоматизовані системи аналізу зображень мікрокристалічної картини фацій РР з використанням комп'ютерних технологій з метою визначення кількісних характеристик як окремих кристалів, фрактальних структур, так і периферійної зони фацій запропоновано в дослідженнях Ткаченко Ю.В. та співавт. [21].

Запорукою успішної профілактики і лікування будь-якої хвороби є рання діагностика її доклінічної стадії. Результати досліджень стану ротової порожнини КО методом, а саме, аналіз периферійної зони фацій РР пацієнтів із синдромом

затримки внутрішньоутробного розвитку в анамнезі з метою виявлення маркерів, що свідчать про початок патологічних змін у тканинах пародонта на стадії передхвороби, відображені в роботах [4, 8].

Характер зміни функції кристалоутворення РР після впливу терапевтичного низькоінтенсивного світлового випромінювання на тканини пародонта взагалі і особливості дії монохроматичного когерентного лазерного чи ширококутового поляризованого ПАЙЛЕР-випромінювання зокрема, як виявляється, істотно залежить від типу джерела [3, 5, 8, 10]. У ході аналізу проведених клініко-експериментальних досліджень була розроблена методика диференційованого підходу до при-

значення методів світлотерапії з урахуванням показників мікрорекристалізації ротової рідини [6] та запропоновано призначати обробку червоним лазером пацієнтам як із низькою, так і з високою кристалоутворювальною функцією РР. Щоб не сприяти підвищенню інтенсивності каріозного процесу, застосовувати апарат ПАЙЛЕР-світла запропоновано пацієнтам, кристалоутворювальна функція ротової рідини яких має оцінку не нижче 4-5 балів. Отже, аналіз морфологічної картини фацій РР може бути своєрідним маркером доцільності використання того чи іншого методу профілактики розладів мікроциркуляції в тканинах пародонта.

До недоліків КО методу слід віднести певну суб'єктивність

оцінювання індивідуальної картини фацій, а також залежність картини фацій від багатьох зовнішніх та внутрішніх факторів – фази менструального циклу жінок (або естрогенної фази) [4], характеру харчування, часу доби та ін.

Враховуючи ефективність застосування КО методу, неінвазивність, швидкість проведення дослідження РР, економічну вигідність та доступність, вважаємо за можливе рекомендувати його до використання не тільки для діагностики патологічних процесів у порожнині рота пацієнтів, у тому числі на доклінічній стадії розвитку патологічного процесу, але й для обґрунтування проведення профілактичних заходів і оцінювання їх ефективності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барер Г.М., Денисов А.Б., Стурова Т.М. // *Рос. стоматол. журн.* – 2003. – №1. – С. 33-35.
2. Бельская Л.В., Голованова О.А., Шукайло Е.С., Турманидзе В.Г. // *Вестник ОНЗ РАН.* – 2011. – Т. 3. – Режим доступа: <http://onznews.wdcb.ru/publications/v03/asempg11ru/2011NZ000142R.pdf> (15.10.2012). – Загл. с экрана.
3. Гармаш О.В., Назарян Р.С. // *Эксперимент. і кліні. медицина.* – 2013. – №4 (61). – С. 132-138.
4. Гармаш О.В., Назарян Р.С., Хмиз Т.Г. // *Профілактична та дитяча стоматол.* – 2013. – №2 (9). – С. 7-12.
5. Гармаш О.В. // *Укр. стоматол. альманах.* – 2013. – №6. – С. 90-91.
6. Гармаш О.В. *Клініко-експериментальне обґрунтування методів корекції мікроциркуляторних порушень тканин пародонта в осіб із синдромом затримки внутрішньоутробного розвитку в анамнезі: Дис. ... канд. мед. наук.* – Х., 2014. – 218 с.
7. Леус П.А. *Клинико-экспериментальное исследование патогенеза, патогенетической консервативной терапии и профилактики кариеса зубов: Автореф. дис. ... докт. мед. наук.* – М., 1977. – 30 с.
8. Назарян Р.С., Гармаш О.В., Хмиз Т.Г. // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: зб. наук. праць.* – 2012. – Вип. 5 (113). – С. 597-606.
9. Неретин В.Я., Кирьяков В.А. // *Советская медицина.* – 1977. – №7. – С. 96-103.
10. Пат. 104703 Україна, МПК А 61 N 5/00. – Опубл.: 25.02.14. – Бюл. №4.
11. Пузикова О.Ю., Сунцов В.Г., Коршунов А.П. // *Тез. докл. X съезда Стоматол. Ассоциации России.* – М., 2005. – С. 322-325.
12. Разумова С.Н. *Диагностические и прогностические критерии стоматологической патологии по морфологической картине ротовой жидкости у пациентов различных возрастных групп: Автореф. дис. ... докт. мед. наук.* – М., 2007. – 46 с.
13. Разумова С.Н., Булгаков В.С., Шатохина С.Н., Шабалин В.Н. // *Вестник Рос. университета Дружбы народов.* – 2008. – №3. – С. 73-78.
14. Рыжкова О.А. *Клинико-диагностическое значение морфологической картины сыворотки крови у больных туберкулезом легких: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* – М., 2008. – 30 с.
15. Селифанова Е.И. *Стоматологический статус и особенности кристаллизации слюны у больных сахарным диабетом: Дис. ... канд. мед. наук.* – М., 2005. – 132 с.
16. Скрипкина Г.И., Пятаева А.Н., Сунцов В.Г. // *Институт стоматол.* – 2011. – №1. – С. 118-120.

17. Стурова Т.М. Особенности кристаллизации слюны при заболеваниях органов пищеварения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2003. – 20 с.
18. Сунцов В.Г., Волошина И.М. // *Стоматол. журн.* – 2010. – №1. – С. 12-14.
19. Тарасевич Ю.Ю., Аюпова А.К. // *Журн. техн. физики.* – 2003. – №5. – С. 13-18.
20. Тарасевич Ю.Ю. // *Успехи физич. наук.* – 2004. – №7. – С. 779-790.
21. Ткаченко Ю.В., Слободской Р.Б. // *Актуальные вопросы и тенденции развития современной медицины: Матер. междунар. заочной науч.-практ. конф.* – Новосибирск, 2012. – С. 54-62.
22. Чижевский И.В. // *Проблемы экологии та медицини.* – 2002. – №1/2. – С. 36-39.
23. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. // *Вестник Рос. академии мед. наук.* – 2000. – №3. – С. 45-49.
24. Шаповалова О.Г. *Диагностическая и лечебная тактика при отсутствии стойкой ремиссии у больных с заболеваниями пародонта: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* – Самара, 2010. – 26 с.
25. Шатохина С.Н., Разумова С.Н., Шабалин В.Н. // *Стоматол.* – 2006. – №4. – С. 14-17.
26. Шевцова Ю.Ю. *Стоматология детского возраста и профилактика стоматологических заболеваний // Тез. докл. III Рос.-Европейского конгр. по детской стоматол., Москва, 16-17 сентября 2013 г.: Матер. IX науч.-практ. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 16 мая 2013 г.* – М.; С.Пб., 2013. – С. 186-187.
27. Garmash O.V., Yussuf M., El Masri R., El Masri H. // *Abstract book VI-th Intern. Scientific Interdisciplinary Conf. for medical students and young doctors, may 16-17.2013.* – Kharkiv, 2013. – P. 240-241.

ПІДХОДИ ДО ВИКОРИСТАННЯ КРИСТАЛООПТИЧНОГО МЕТОДУ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

О.В.Гармаш, Є.М.Рябокоть, Є.К.Гармаш*

Харківський національний медичний університет, Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна*

Ключові слова: ротова рідина; кристалоутворювальна здатність; зубощелепна система; низькоінтенсивне світлове випромінювання

Узагальнені результати застосування кристалооптичного методу дослідження біологічних рідин, зокрема ротової рідини, з метою діагностики патологічних процесів у порожнині рота пацієнтів, у тому числі на доклінічній стадії розвитку патологічного процесу. У статті наведені результати досліджень змін кристалоутворювальної здатності ротової рідини та морфологічної картини її фацій у пацієнтів при терапевтичній дії на тканини пародонта низькоінтенсивного світлового випромінювання. Проведено співставлення результатів курсу профілактики для двох типів випромінювання – поліхроматичного поляризаційного та червоного монохроматичного. Виявлена позитивна динаміка зміни морфологічної картини фацій і зникнення в них маркерів патологічних станів, що може свідчити про сприятливий вплив низькоінтенсивного світлового випромінювання на стан пародонта. Надані рекомендації по застосуванню того або іншого профілактичного засобу в залежності від вихідних кристалоутворювальних властивостей ротової рідини. Аналіз сучасної літератури з даної теми показав, що морфологічна картина фацій ротової рідини може бути своєрідним маркером доцільності використання того чи іншого методу профілактики розладів мікроциркуляції в тканинах щелепно-лицьової області, обґрунтуванням для проведення профілактичних заходів та оцінювання їх ефективності.

ПОДХОДЫ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ КРИСТАЛООПТИЧЕСКОГО МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

О.В.Гармаш, Е.Н.Рябокоть, Е.К.Гармаш*

Харьковский национальный медицинский университет, Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина*

Ключевые слова: ротовая жидкость; кристаллообразующая способность; зубочелюстная система; низкоинтенсивное световое излучение

Обобщены результаты применения кристалооптического метода исследования биологических жидкостей, в частности ротовой жидкости, с целью диагностики патологических процессов в полости рта пациентов, в том числе на доклинической стадии развития патологического процесса. В статье приведены результаты исследования изменений кристаллообразующей способности ротовой жидкости и морфологической картины ее фаций у пациентов при терапевтическом воздействии на ткани пародонта низкоинтенсивного светового излучения. Проведено сравнение результатов курса профилактики для двух типов излучения – полихроматического поляризованного и красного монохроматического. Обнаружена положительная динамика изменения морфологической картины фаций и исчезновение в них маркеров патологических состояний, что может свидетельствовать о благоприятном воздействии низкоинтенсивного светового излучения на состояние пародонта. Даны рекомендации по применению того или иного профилактического средства в зависимости от исходных кристаллообразующих свойств ротовой жидкости. Анализ современной литературы по данной теме показал, что морфологическая картина фаций ротовой жидкости может быть своеобразным маркером целесообразности использования того или иного метода профилактики расстройств микроциркуляции в тканях челюстно-лицевой области, обоснованием для проведения профилактических мероприятий и оценивания их эффективности.

Адреса для листування:

61022, м. Харків, пр. Леніна, 4.

Тел. (97) 929-78-16. E-mail: olyushka@inbox.ru.

Харківський національний медичний університет

Надійшла до редакції 06.10.2014 р.

UDC 612.017.1: 612.248

THE STIMULATING EFFECT OF INTERLEUKIN-33 ON PROLIFERATION OF THE PRIMARY HUMAN LUNG FIBROBLASTS

O.A.Bocharov

National University of Pharmacy

Key words: interleukin-33; human lung fibroblasts; proliferation

Interleukin (IL)-33 is a multifunctional cytokine that belongs to the IL-1 cytokine family and expressed by multiple organs and cell types. Recent studies have showed that IL-33 plays an etiological role in several fibrotic disorders and may be involved in the pathogenesis of chronic respiratory diseases. It has been reported that IL-33-induced cutaneous fibrosis is associated with the increased fibroblast proliferation and altered expression of extracellular matrix-modifying genes. However, the role of IL-33 in regulating of functions of lung fibroblasts remains unclear. In the present study we examined the effect of IL-33 on proliferation of human lung fibroblasts. Five primary lines of normal adult human lung fibroblasts were cultured for 3-7 days in the presence of increasing concentrations of IL-33. We have observed that normal human lung fibroblasts responded in a dose-dependent manner to treatment with recombinant human IL-33 by increasing proliferation rates 1.5- to 2.3 fold compared to the non-stimulated control. The maximum effect of IL-33 on fibroblast proliferation was observed in the cytokine concentrations range from 2 ng/ml to 100 ng/ml. These results suggest that IL-33 may play an important role in the regulation of the human lung fibroblast proliferation. Human lung fibroblasts activated by IL-33 may act as effector cells not only in the pathogenesis of lung diseases, but also in lung remodeling processes.

Interleukin (IL)-33 is a multifunctional cytokine that belongs to the IL-1 cytokine family and mainly expressed by fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells, and smooth muscle cells in the lung, kidney, skin, stomach and central nervous system [2, 4, 10]. In the absence of pro-inflammatory stimuli, IL-33 localizes to the nucleus where in its uncleaved form it interacts with histones H2A and H2B [9]. IL-33 is released from cells undergoing necrotic cell death and thus functions as a damage-associated molecular pattern (DAMP) [11]. The biological effects of IL-33 are mediated through interaction with the receptors ST2 and IL-1 Receptor Accessory Protein, both of them are widely expressed by fibroblasts, mast cells, macrophages, innate immune cells and T-helper 2 (Th2) cells [3]. Circulating IL-33 is elevated in patients with pulmonary diseases, anaphylaxis, rheumatoid arthritis, atherosclerosis, Alzheimer's disease, inflammatory bowel disease and sepsis [1]. Recent studies have revealed a connection between IL-33/ST2 and development of fibrotic dis-

orders, such as pulmonary fibrosis, scleroderma and progressive systemic sclerosis [6, 7, 8, 11]. It has been reported that IL-33-induced cutaneous fibrosis is associated with the increased fibroblast proliferation and altered expression of extracellular matrix-modifying genes [5]. However, the role of IL-33 in regulation of functions of lung fibroblasts remains unclear.

The aim of the present study was to investigate the effect of rhIL-33 on proliferation of human lung fibroblasts *in vitro*.

Materials and Methods

Five primary normal adult human lung fibroblasts lines (NHLF1-NHLF5) were purchased from NIH (Bethesda, MD) and Lonza Walkersville (Walkersville, MD). Fibroblast lines were grown in T75 culture flasks in a humidified atmosphere of 5% CO₂ at 37°C in the high serum tissue culture medium DMEM with glutamine, sodium pyruvate, antibiotic/antimycotic, and 10% bovine calf serum.

NHLF were tested in passage three-seven. Cells were grown to

confluency, treated by trypsinization, washed, and replaced in the high serum tissue culture medium at 2x10³ cells per well in 96-well flat-bottom tissue culture plates. After overnight incubation in the high serum tissue culture medium the medium in each well was replaced with RPMI 1640 containing all supplements, except the serum concentration was decreased to 0.5% (the low serum tissue culture medium). The fibroblasts were incubated for another 24 h before adding the test substances. Recombinant human IL-33 (R&D Systems) was used in the concentrations of 1, 2, 10, 50, 100 and 300 ng/ml. The low serum tissue culture medium alone was the negative control. Proliferation of fibroblasts was analyzed using the cell proliferation assay (CellTiter Aqueous; Promega) in accordance with the manufacturer's recommendations, after the fibroblasts were incubated with the test substances for 3-7 days. Changes in the cell proliferation rates were assessed in quintuplicate.

Results and Discussion

Normal human primary pulmonary fibroblasts proliferate in response to stimulation with IL-33.

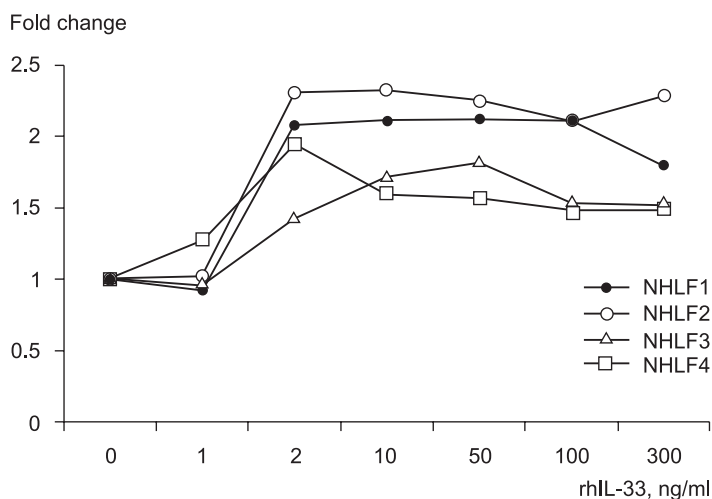


Fig. The effect of IL-33 on proliferation of primary fibroblasts: Treatment with IL-33 accelerated proliferation of the primary fibroblasts in a dose-dependent manner (CellTiter Aqueous assays, day 5). Data show the fold increase in the proliferation rate \pm SD, in normal adult human lung fibroblasts

One-way ANOVA revealed a significant effect of IL-33 (in the concentrations of 2 to 300 ng/ml) on the fibroblast proliferation. Increase in the proliferation rate was observed in four lines (Fig.).

One cell line did not respond by a change in proliferation to treatment with IL-33 (data are not shown). The NHLF responded in a dose-dependent manner to treatment with recombinant human

IL-33, by increasing proliferation rates 1.5 to 2.3 fold compared to the non-stimulated control fibroblasts. The maximum effect of IL-33 on the fibroblast proliferation was observed in the cytokine concentration of 2 ng/ml with a gradual decline in the concentrations of 100 ng/ml and 300 ng/ml. The average increase in proliferation rates in this concentration was 1.95 ± 0.25 -fold compared with the non-stimulated control cultures.

The results obtained suggest that IL-33 may play an important role in the regulation of the human lung fibroblast proliferation.

CONCLUSIONS

Recombinant human interleukin-33 stimulates the primary human lung fibroblasts proliferation in a dose-dependent manner.

Human lung fibroblasts activated by IL-33 may act as effector cells not only in the pathogenesis of lung diseases, but also in lung remodeling processes.

REFERENCES

1. Granne I., Southcombe J.H., Snider J.V. et al. // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, №9. – P. 1.
2. Liew F.Y., Pitman N.I., McInnes I.B. // *Nat. Rev. Immunol.* – 2010. – Vol. 10, №2. – P. 103-110.
3. Miller A.M. // *J. Inflamm. (Lond)*. – 2011. – Vol. 8, №8 – P. 22.
4. Nabe T. // *J. Pharmacol. Sci.* – 2014. – Vol. 126, №9.
5. Nishida A., Andoh A., Imaeda H. et al. // *Gut*. – 2010. – Vol. 59, №4. – P. 531-541.
6. Oboki K., Ohno T., Kajiwara N. et al. // *Allergol. Int.* – 2010. – Vol. 59, №2. – P. 143-160.
7. Préfontaine D., Nadigel J., Chouiali F. et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125, №3. – P. 752-754.
8. Rankin A.L., Mumm J.B., Murphy E. et al. // *J. Immunol.* – 2010. – Vol. 184, №3. – P. 1526-1535.
9. Roussel L., Erard M., Cayrol C., Girard J.P. // *EMBO Reports*. – 2008. – Vol. 9, №10. – P. 1006-1012.
10. Schmitz J., Owyang A., Oldham E. et al. // *Immunity*. – 2005. – Vol. 23, №5. – P. 479-490.
11. Yamamoto T. // *Self Nonself*. – 2011. – Vol. 2, №1. – P. 4-10.

ВПЛИВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-33 НА ПРОЛІФЕРАЦІЮ ПЕРВИННИХ ЛЕГЕНЕВИХ ФІБРОБЛАСТІВ

О.А.Бочаров

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: інтерлейкін-33; легеневі фібробласти; проліферація

Інтерлейкін 33 (IL-33, interleukin 33) – багатofункціональний цитокін, який належить до сімейства прозапального інтерлейкіну 1. IL-33 стимулює продукцію прозапальних цитокінів різними за походженням клітинами організму і може функціонувати як негістоновий ДНК-зв'язуючий білок, який стабілізує формування нуклеосоми. IL-33 експресується в різних органах і тканинах. Основними джерелами даного цитокіну є ендотеліальні і епітеліальні клітини. IL-33 залучений у розвиток кардіоваскулярних захворювань, бронхіальної астми, ревматоїдного артриту, хвороби Крона, гіпертрофії і гіперплазії тканин. Даний цитокін відіграє ключову роль в етіології і патогенезі деяких фіброзних захворювань (системного склерозу, фіброзу печінки, фіброзу шкіри). Відомо, що IL-33-індукований фіброз шкіри пов'язаний з посиленою проліферацією фібробластів і зміненою експресією генів позаклітинного матриксу. У той же час роль IL-33 в регуляції функціональної активності легеневих фібробластів залишається невідомою. Метою дослідження було вивчення впливу IL-33 на проліферацію фібробластів легень людини. П'ять первинних ліній нормальних легеневих фібробластів культивували протягом 3-7 діб у присутності зростаючих концентрацій IL-33. Встановлено, що рекомбінантний людський IL-33 дозозалежно

стимулює проліферацію нормальних легневих фібробластів. Так, встановлено підвищення активності проліферації фібробластів в 1,5-2,3 рази після стимуляції з ІЛ-33 в порівнянні з інтактним контролем. Максимальний стимулюючий ефект ІЛ-33 на проліферацію фібробластів спостерігався в концентрації від 2 до 100 нг/мл. Отримані результати свідчать про важливу роль ІЛ-33 в регуляції проліферації фібробластів легень людини.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-33 НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ПЕРВИЧНЫХ ЛЕГОЧНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

А.А.Бочаров

Национальный фармацевтический университет

Ключевые слова: интерлейкин-33; легочные фибробласты; пролиферация

Интерлейкин 33 (ІЛ-33, interleukin 33) – многофункциональный цитокин, принадлежащий к семейству провоспалительного интерлейкина 1 (ІЛ-1) и обладающий иммунорегуляторными свойствами. ІЛ-33 стимулирует выработку провоспалительных цитокинов различными по происхождению клетками организма и может функционировать в качестве негистонового ДНК-связывающего белка, стабилизирующего формирование нуклеосомы. ІЛ-33 экспрессируется в различных органах и тканях. Основными источниками данного цитокина являются эндотелиальные и эпителиальные клетки. ІЛ-33, вовлечен в развитие сердечно-сосудистых заболеваний, бронхиальной астмы, ревматоидного артрита, болезни Крона, гипертрофии и гиперплазии тканей. Известно, что данный цитокин играет ключевую роль в этиологии и патогенезе некоторых фиброзных заболеваний (системного склероза, фиброза печени, фиброза кожи). Установлено, что ІЛ-33-индуцированный фиброз кожи связан с усиленной пролиферацией фибробластов и измененной экспрессией генов внеклеточного матрикса. В то же время роль ІЛ-33 в регуляции функциональной активности легочных фибробластов остается неизвестной. Целью настоящего исследования являлось изучение влияния рекомбинантного человеческого ІЛ-33 на пролиферацию нормальных фибробластов легких человека. Пять первичных линий нормальных фибробластов легких человека культивировали в течение 3-7 дней в присутствии возрастающих концентраций ІЛ-33. Установлено, что рекомбинантный человеческий ІЛ-33 дозозависимо стимулирует пролиферацию нормальных легочных фибробластов. Было установлено, что после стимуляции легочных фибробластов ІЛ-33 наблюдалось повышение активности пролиферации в 1,5-2,3 раза по сравнению с интактным контролем. Максимальный стимулирующий эффект ІЛ-33 на пролиферацию фибробластов наблюдался в концентрации от 2 до 100 нг/мл. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли ІЛ-33 в регуляции пролиферации фибробластов легких человека.

Address for correspondence:

12, Melnikov str., Kharkiv, 61002, Ukraine.

Tel. (57) 706-30-67. E-mail: Botcharov@ukr.net.

National University of Pharmacy

Received in 03.10.2014

УДК 616.314.17:616.311-006:615.454.1

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОРА І НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД МІКРОФЛОРИ ЗУБНОГО НАЛЬОТУ

Н.И.Філімонова, О.Г.Гейдеріх, Р.С.Назарян, К.Ю.Спірідонова**

Національний фармацевтичний університет
Харківський національний медичний університет*

Ключові слова: риванол; низькоінтенсивне лазерне випромінювання; мікрофлора зубного нальоту

THE STUDY OF THE INFLUENCE OF A PHOTSENSITIZER AND COMBINED EFFECTS OF LOW-INTENSITY LASER RADIATION ON THE COMPOSITION OF THE MICROFLORA OF THE DENTAL PLAQUE

N.I.Filimonova, O.G.Geiderikh, R.S.Nazarian, K.Yu.Spiridonova**

*National University of Pharmacy, Kharkiv National Medical University**

Key words: ethacridine lactate; low-intensity laser radiation; the microflora of the dental plaque

The effect of low-intensity laser radiation (LILR) on the background of a photosensitizer (ethacridine lactate) on selective elimination of pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms has been studied. Taking into account antiseptic properties of ethacridine lactate the maximally possible time of influence of ethacridine lactate as a photosensitizer should be set. It has been found that after the influence of rivanol (ethacridine lactate) within 1.5-3 minutes the bactericidal action on microorganisms is observed. The effect of antiseptic in the interval from 30 to 60 seconds was not accompanied with the expressed quantitative change of the microbial population. The second stage of the research was identification of microorganisms sensitivity to various concentrations of the photosensitizer. As a photosensitizer the aqueous solution of ethacridine lactate in the concentrations of 0.1; 0.05; 0.01% was used. The results obtained allow to conclude that the concentration of 0.1% solution of ethacridine lactate increases the sensitivity of microorganisms to the effects of low-intensity laser radiation. During the experiment the combined impact of the antimicrobial activity of 0.1% solution of ethacridine lactate and blue spectrum laser radiation has been determined; it is manifested by decrease in the number of CFU/ml of the total microflora of the dental plaque. The number of CFU is reduced from $14.3 \pm 0.12 \times 10^3$ /ml up to $2.4 \pm 0.3 \times 10^2$ /ml after exposure (Table 1). Comparing the data of the control (the initial number of the colonies grown) and the experiment (the number of the colonies grown after the photoactivated disinfection) we have found that the antibacterial action of photoactivated disinfection depends directly on duration of exposure. Thus, the effectiveness of combined use of a photosensitizer with LILR is 1.2 times higher than that of ethacridine lactate (the exposure time is 60 seconds), and 2.0 times higher than the antimicrobial effect of the laser blue spectrum (the exposure time is 120 seconds).

Високе зростання показників поширеності та інтенсивності патології порожнини рота у вигляді гінгівітів, періодонтитів, карієсу зубів у дітей і дорослих виводить проблему їх лікування і попередження на перший план у сучасній одонтології. Останнім часом на особливу увагу заслуговує така патологія як карієс, здатний призвести до розвитку алергічних реакцій, порушень з боку кровоносної системи, зниження жувальної функції, видалення зубів і, як результат, виникнення

патології ШКТ. Нині провідне місце в розвитку карієсу належить мікроорганізмам, що заселяють ротову порожнину. Згідно з даними літератури більше 70% мікроорганізмів припадає на стрептококи, 15% – на вейлонели і нейсерії, інша складова мікрофлори – дифтероїди, лактобактерії, стафілококи, лептотрихії, фузобактерії, актиноміцети, дріжджоподібні гриби та ін. [2, 4, 9, 10].

Згідно з сучасною теорією виникнення карієсу карієсогенні мікроорганізми порожнини

рота при ферментації низькомолекулярних вуглеводів виробляють органічні кислоти, що призводить до зниження рівня рН і як наслідок – до прогресуючої демінералізації тканин зубів. Великий спектр антимікробних препаратів, що існують на теперішній час і використовуються в т.ч. в одонтології, має ряд побічних ефектів: їх використання призводить до масового знищення мікрофлори усього біотопу порожнини рота і селекції стійких штамів мікроорганізмів [1, 3, 8, 11, 12]. В останні декілька років введено використання нового методу антимікробної терапії – фотоактивованої дезінфекції (ФАД), яка ґрунтується на селективному знищенні патогенної мікрофлори,

Н.І.Філімонова – доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Р.С.Назарян – доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри стоматології дитячого віку, дитячої щелепно-лицьової хірургії та імплантології Харківського національного медичного університету

сенсibilізованої спеціальним препаратом і активованої лазерним світлом з певною довжиною хвилі [5-7, 13].

Метою роботи було вивчення *in vitro* впливу комбінованої дії фотосенсibilізатора і низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ) на рівень антимікробної дії відносно патогенної мікрофлори зубного нальоту.

Матеріали та методи

Матеріал для досліджень відбирали у 20 пацієнтів без супутньої соматичної патології віком 6-7 років з різним рівнем розвитку карієсу. Забір матеріалу робили з використанням стандартних стоматологічних інструментів.

Вивчення дії лазерного випромінювання. Сукупну мікрофлору кореневих каналів вносили в цукровий бульйон у співвідношенні 1:10. Для кількісної оцінки результатів з отриманої суспензії мікродозатором відбирали 0,05 мл, робили посів на чашки Петрі на поверхню 5%-вого кров'яного агару, одна з яких служила контролем, а інші піддавалися дії лазерного випромінювання в різних режимах. Після опромінення вміст краплі ретельно розсіювали шпателем по поверхні поживного середовища. Посіви інкубували в термостаті при температурі 37°C протягом 36-48 годин, після чого підраховували число колоній, що вирости.

Вивчення дії фотосенсibilізатора. Мікрофлору кореневих каналів емульгували в 0,9 мл цукрового бульйону. Мікродозатором відбирали 0,05 мл, висівали на чашку з 5%-вим кров'яним агаром. Цей висів служив контролем. Після цього в пробірку вносили 0,1 мл 0,1%-вого розчину риванолу (етакридину лактату).

Після закінчення часу експозиції (1-3 хв) етакридину лактату з мікробними клітинами мікродозатором переносили су-

спензію в об'ємі 0,05 мл в пробірці з 1 мл цукрового бульйону. При цьому концентрація етакридину лактату зменшувалася в 20 разів, що виключало надалі антимікробну дію навіть 1%-вого розчину риванолу. З цієї пробірки 0,05 мл суспензії висівали на чашки з 5%-вим кров'яним агаром. Чашки поміщалися в термостат при 37°C на 24-36 годин, після чого визначали наявність та інтенсивність росту.

Вивчення ФАД. Сукупну мікрофлору зубного нальоту вносили в 0,9 мл цукрового бульйону. У пробірку вносили 0,1 мл риванолу з таким розрахунком, щоб отримати кінцеву концентрацію 0,1%. До внесення етакридину лактату і після закінчення часу експозиції (час сенсibilізації) з пробірки мікродозатором відбирали суспензію в об'ємі 0,05 мл і вносили на поверхню чашки з 5 %-вим кров'яним агаром.

Дослідні чашки Петрі піддавали опроміненню НІЛВ. Тривалість дії складала 30, 60 і 120 секунд. Після опромінення матеріал ретельно розподілявся шпателем по поверхні агару. Чашки поміщали в термостат на 36-48 годин при 37°C, після чого підраховували число колоній, що вирости. Порівнюючи дані контролю (початкове число до додавання фотосенсibilізатора) і досліду (після опромінення фотосенсibilізованих клітин), можна судити про дію лазерного випромінювання на сенсibilізовану риванолом мікрофлору зубного нальоту.

Сукупну мікрофлору зубного нальоту обробляли композицією фотосенсibilізатора і НІЛВ. Після цього їх витримували впродовж часу, необхідного для ефективного зв'язування композиції з клітинами мікроорганізмів (60 с). Потім на вказану область впродовж 60 і 120 с впливали оптичним випромінюванням з довжиною хвилі 445 нм, що відповідало максимуму поглинан-

ня фотосенсibilізатора, і щільністю потужності 100 мВт/см², необхідною для активації композиції.

Облік результатів проводили шляхом підрахунку числа колонієутворюючих одиниць (КУО) через 24-72 години інкубації при 37°C. Контролем служили суспензії бактерій, не оброблені сенсibilізатором і не піддані опроміненню.

Для статистичної обробки отриманих результатів дослідження був використаний пакет застосованих програм STATISTICA 6.0 фірми StatSoft Inc. для персонального комп'ютера в системі Windows.

Результати та їх обговорення

Склад мікрофлори зубного нальоту у клінічно здорових пацієнтів і у пацієнтів із запаленням періодонтальних тканин має значні відмінності, що пов'язують, передусім, з тим, що видова специфічність мікроорганізмів непостійна і залежить як від ендогенних, так і від екзогенних чинників. Особливий інтерес представляє співвідношення патогенних і непатогенних мікроорганізмів. У проведеному дослідженні вивчали вплив НІЛВ на тлі фотосенсibilізатора (етакридину лактату) на селективну елімінацію патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів.

Враховуючи те, що етакридину лактату притаманні властивості антисептика, слід було встановити максимально можливий час дії етакридину лактату як фотосенсibilізатора. Встановлено, що після дії риванолу (етакридину лактату) протягом 1,5-3-х хвилин відзначалася бактерицидна дія на мікроорганізми. Дія ж антисептика в проміжку від 30 до 60 с не супроводжувалася вираженою кількісною зміною мікробної популяції.

Другим етапом дослідження стало визначення чутливо-

Таблиця

Порівняльна характеристика впливу комбінованої дії фотосенсибілізатора і низькоінтенсивного лазерного випромінювання на чутливість мікроорганізмів, n=6

КУО /мл			
Контроль	Фактор впливу / Експозиція, секунди		
	етакридину лактат (60 с)	НІЛВ (120 с)	етакридину лактат + НІЛВ (120 с)
6,2±0,14 × 10 ³	2,1±0,07 × 10 ³	6,2±0,09 × 10 ³	3,6±0,2 × 10 ²
14,3±0,12 × 10 ³	5,7±0,13 × 10 ³	14,5±0,2 × 10 ³	2,4±0,3 × 10 ²
7,9±0,1 × 10 ³	3,1±0,04 × 10 ³	7,8±0,13 × 10 ³	2,6±0,2 × 10 ²
5,2±0,08 × 10 ³	4,0±0,07 × 10 ³	5,1±0,07 × 10 ³	5,2±0,14 × 10 ²
11,8±0,2 × 10 ³	8,2±0,03 × 10 ³	11,9±0,1 × 10 ³	4,2±0,14 × 10 ²
6,5±0,25 × 10 ³	5,2±0,07 × 10 ³	6,7±0,17 × 10 ³	3,8±0,26 × 10 ²
8,3±0,17 × 10 ³	5,3±0,06 × 10 ³	8,0±0,307 × 10 ³	5,1±0,24 × 10 ²
6,0±0,19 × 10 ³	2,3±0,04 × 10 ³	4,5±0,1 × 10 ³	3,2±0,28 × 10 ²
5,9±0,09 × 10 ³	3,1±0,11 × 10 ³	6,0±0,1 × 10 ³	3,1±0,15 × 10 ²
7,9±0,04 × 10 ³	5,6±0,05 × 10 ³	8,2±0,04 × 10 ³	4,2±0,14 × 10 ²
6,8±0,13 × 10 ³	2,4±0,3 × 10 ³	5,4±0,06 × 10 ³	2,8±0,1 × 10 ²
7,2±0,11 × 10 ³	3,8±0,02 × 10 ³	6,9±0,17 × 10 ³	3,0±0,09 × 10 ²
12,3±0,14 × 10 ³	4,6±0,07 × 10 ³	5,2±0,08 × 10 ³	2,7±0,13 × 10 ²
5,6±0,09 × 10 ³	3,5±0,12 × 10 ³	6,1±0,09 × 10 ³	4,1±0,2 × 10 ²
6,7±0,2 × 10 ³	4,2±0,11 × 10 ³	5,3±0,05 × 10 ³	3,2±0,13 × 10 ²
7,6±0,12 × 10 ³	5,7±0,03 × 10 ³	7,9±0,12 × 10 ³	4,6±0,1 × 10 ²
8,6±0,15 × 10 ³	6,8±0,1 × 10 ³	9,2±0,1 × 10 ³	3,3±0,26 × 10 ²
9,3±0,16 × 10 ³	4,1±0,06 × 10 ³	5,3±0,05 × 10 ³	4,4±0,16 × 10 ²
11,4±0,13 × 10 ³	7,2±0,12 × 10 ³	10,9±0,13 × 10 ³	5,2±0,12 × 10 ²
5,8±0,1 × 10 ³	3,4±0,2 × 10 ³	5,7±0,08 × 10 ³	4,4±0,21 × 10 ²

Примітка. n – кількість повторів.

сті мікроорганізмів до різних концентрацій фотосенсибілізатора. Використали водний розчин етакридину лактату з концентраціями 0,1; 0,05; 0,01%. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що роз-

чин етакридину лактату в концентрації 0,1% підвищує чутливість мікроорганізмів до дії НІЛВ.

У ході проведеного експерименту було встановлено антимікробну дію комбінованого впливу 0,1%-вого розчину ета-

кридину лактату і лазерного випромінювання синього спектра, що проявляється зниженням числа КУО/мл сукупної мікрофлори зубного нальоту. В середньому кількість КУО знижується зі значення 14,3±0,12×10³/мл до значення 2,4±0,3×10² мл після опромінення (табл.).

Зіставляючи дані контролю (початкове число колоній, що виростили) і досліду (число колоній, що виростили після проведення фотоактивованої дезінфекції), ми встановили, що антимікробна дія фотоактивованої дезінфекції знаходиться в прямій залежності від тривалості опромінення.

Так, ефективність комбінованого використання фотосенсибілізатора з НІЛВ в 1,2 рази перевищує активність етакридину лактату (час експозиції 60 с) і в 2,0 рази перевищує антимікробний ефект лазерного випромінювання синього спектра (час експозиції 120 с).

ВИСНОВКИ

Таким чином, отримані у рамках проведеного експерименту результати свідчать про виражену антимікробну дію лазерного випромінювання синього спектра на мікрофлору зубного нальоту, сенсibilізовану розчином етакридину лактату, що дозволяє обґрунтувати можливість елімінації патогенної мікрофлори порожнини рота саме таким методом і вимагає його подальшого вивчення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барер Г.М., Зорян Е.В., Агапов В.С. и др. Рациональная фармакотерапия в стоматологии: Руковод. для практикующих врачей / Под общ. ред. Г.М.Барера, Е.В.Зорян. – М.: Литтерра, 2006. – 568 с. (Рациональная фармакотерапия: Сер. руковод. для практикующих врачей. Т. 11).
2. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология: Учеб. пособие. – Нижний Новгород: НГМА, 2004. – 158 с.
3. Козлов Р.С. // Клини. микробиол. антимикроб. химиотерапии. – 2010. – Т. 12, №4. – С. 284-294.
4. Микробная флора полости рта: пути заселения, распространения, распределения по биотопам полости рта в норме и при патологии // Стоматол. обозрение. – 2004. – №1. – С. 7-10.
5. Москвин С.В., Амирханян А.Н. Методы комбинированной и сочетанной лазерной терапии в стоматологии. – М. – Тверь: ООО Триада, 2011. – 208 с.
6. Наумович С.А., Плавский В.Ю., Петров П.Т., Кувшинов А.В. // Современная стоматол. – 2007. – №2. – С. 27-29.
7. Ніколішин А.К., Сідаш Ю.В., Федорченко В.І. // Укр. стоматол. альманах. – 2010. – №2, Ч. 2. – С. 35-39.

8. Решедько Г.К., Козлов Р.С. Состояние резистентности к антиинфекционным химиопрепаратам в России: Практик. руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л.С.Страчунского, Ю.Б.Белюсова, С.Н.Козлова. – Смоленск: МАКМАХ, 2007. – С. 32-46.
9. Табаева А.А. Микробиология поражений полости рта при стоматологических и инфекционных заболеваниях: Учеб. пособие. – Алматы, 2006. – 127 с.
10. Царёв В.Н., Абакаров С.И., Умарова С.Э. // *Стоматол.* – 2008. – №1. – С. 55-57.
11. Laxminarayan R., Duse A., Wattal C. et al. // *Lancet Infect. Dis.* – 2013. – №12. – P. 1057-1098.
12. Powers J.H. // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2004. – Suppl. 4. – P. 23-31.
13. Simon A. Low level laser therapy for wound healing: An update. Information Paper. IP 22. Edmonton, AB: Alberta Heritage Foundation for Medical Research (AHFMR). – 2004. – P. 1-34.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОРА І НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД МІКРОФЛОРИ ЗУБНОГО НАЛЬОТУ

Н.И.Філімонова, О.Г.Гейдеріх, Р.С.Назарян*, К.Ю.Спіридонова*

Національний фармацевтичний університет, Харківський національний медичний університет*

Ключові слова: риванол; низькоінтенсивне лазерне випромінювання; мікрофлора зубного нальоту

У проведеному дослідженні вивчали вплив НІЛВ на тлі фотосенсибілізатора (етакридину лактату) на селективну елімінацію патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Враховуючи те, що етакридину лактату притаманні властивості антисептика, слід було встановити максимально можливий час дії етакридину лактату як фотосенсибілізатора. Встановлено, що після дії риванолу (етакридину лактату) протягом 1,5-3-х хвилин відзначалася бактерицидна дія на мікроорганізми. Дія ж антисептика в проміжку від 30 до 60 с не супроводжувалася вираженою кількісною зміною мікробної популяції. Другим етапом дослідження стало визначення чутливості мікроорганізмів до різних концентрацій фотосенсибілізатора. Використали водний розчин етакридину лактату у концентраціях 0,1; 0,05; 0,01%. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що розчин етакридину лактату в концентрації 0,1% підвищує чутливість мікроорганізмів до дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання. В ході проведеного експерименту було встановлено антимікробну дію комбінованого впливу 0,1%-вого розчину етакридину лактату і лазерного випромінювання синього спектра, що проявляється зниженням числа КУО/мл сукупної мікрофлори зубного нальоту. Кількість КУО знижується зі значення $14,3 \pm 0,12 \times 10^3$ /мл до значення $2,4 \pm 0,3 \times 10^2$ мл після опромінення. Зіставляючи дані контролю (початкове число колоній, що виростили) і досліду (число колоній, що виростили після проведення фотоактивованої дезінфекції), ми встановили, що антимікробна дія фотоактивованої дезінфекції знаходиться в прямій залежності від тривалості опромінення. Так, ефективність комбінованого використання фотосенсибілізатора з НІЛВ в 1,2 рази перевищує активність етакридину лактату (час експозиції – 60 с) і в 2,0 рази перевищує антимікробний ефект лазерного випромінювання синього спектра (час експозиції – 120 с).

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА И НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ ЗУБНОГО НАЛЕТА

Н.И.Филимонова, О.Г.Гейдерих, Р.С.Назарян*, К.Ю.Спиридонова*

Национальный фармацевтический университет, Харьковский национальный медицинский университет*

Ключевые слова: риванол; низкоинтенсивное лазерное излучение; микрофлора зубного налета

В проведенном исследовании изучали влияние НИЛИ на фоне фотосенсибилизатора (этакридина лактата) на селективную элиминацию патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Учитывая то, что этакридина лактата присущи свойства антисептика, следовало установить максимально возможное время воздействия этакридина лактата как фотосенсибилизатора. Установлено, что после воздействия риванолу (этакридина лактата) в течение 1,5-3-х минут отмечалось бактерицидное действие на микроорганизмы. Воздействие антисептика в промежутке от 30 до 60 с не сопровождалось выраженным количественным изменением микробной популяции. Вторым этапом исследования стало определение чувствительности микроорганизмов к различным концентрациям фотосенсибилизатора. Использовали водный раствор этакридина лактата с концентрациями 0,1; 0,05; 0,01%. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что раствор этакридина лактата в концентрации 0,1% повышает чувствительность микроорганизмов к действию низкоинтенсивного лазерного излучения. В ходе проведенного эксперимента было установлено антимикробное действие комбинированного влияния 0,1%-ого раствора этакридина лактата и лазерного излучения синего спектра, что проявляется снижением числа КОЕ/мл совокупной микрофлоры зубного налета. Количество КОЕ снижается со значения $14,3 \pm 0,12 \times 10^3$ /мл до значения $2,4 \pm 0,3 \times 10^2$ мл после облучения. Сопоставляя данные контроля (исходное число выросших колоний) и опыта (число колоний, выросших после проведения фотоактивированной дезинфекции), мы установили, что антимикробное действие фотоактивированной дезинфекции находится в прямой зависимости от длительности облучения. Так, эффективность комбинированного использования фотосенсибилизатора с НИЛИ в 1,2 раза превышает активность этакридина лактата (время экспозиции – 60 с) и в 2,0 раза превышает противомикробный эффект лазерного излучения синего спектра (время экспозиции – 120 с).

UDC 616.992.282:616-097:615.371

THE EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF ADVISABILITY OF INTRODUCING AN ADJUVANT TO THE COMPOSITION OF THE IMMUNOBIOLOGICAL SOLUTION “CANDIDOCYDE”

M.V.Rybalkin, N.I.Filimonova

National University of Pharmacy

Key words: candidiasis; antigen; vaccine; immunity; adjuvant

*Candidal disease is growing around the world, and it is associated with a wide administration of antimicrobial, hormonal medicines and cytostatic drugs. To fight candidal infections the studies in developing vaccines against candidiasis are carried out actively in recent years in the world. At the premises of the National University of Pharmacy at the Biotechnology Department and the Department of Microbiology, Virology and Immunology the authors have developed a potential vaccine – the immunobiological solution “Candidocyde” based on the associated antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi obtained by using ultrasound. For the purpose of the experimental substantiation of advisability of introducing an adjuvant to the composition of the immunobiological solution “Candidocyde” developed for preventing and treating candidal infections and based on the antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml the samples of the solution “Candidocyde” separately with aluminium hydroxide and aluminium phosphate as adjuvants have been prepared and studied. The studies were performed in white mice with six animals in the group. The experimental samples in the volume of 0.2 ml were injected intramuscularly twice with the interval of 14 days. According to the results of the research conducted it has been found that the immunobiological solution “Candidocyde” based on the antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and the adjuvant under study with two intramuscular injections in the volume of 0.2 ml does not provide efficiency increase when preventing and treating candidal infections. Therefore, the adjuvant introduction into the composition of the immunobiological solution “Candidocyde” is impractical.*

Candidal disease is growing around the world, and it is associated with a wide administration of antimicrobial, hormonal medicines and cytostatic drugs, as well as with increase of the spectrum of morbidity creating a positive background for development of candidiasis (diseases of the blood-forming organs, immune deficiency states, malignancies, radiation injury, HIV-infection, etc.). Often etiological factors of the disease are (in descending order): *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and others [2].

To fight candidal infections the studies are carried out actively in recent years both in the CIS countries, and in the countries of Europe and America [8, 10]. It should be noted that currently no domestic vaccine is produced in Ukraine and no imported vaccines for prevention and treatment of candidiasis have been registered. Therefore, development of a vaccine against candidal infection is the

topical issue of modern pharmacy and medicine.

Taking into account the aforementioned, as well as the modern tendencies of combined subunit vaccines development [3, 6] it is expedient to create vaccines for preventing and treating candidal infections based on *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi.

At the premises of the National University of Pharmacy at the Biotechnology Department and the Department of Microbiology, Virology and Immunology the authors have developed a potential vaccine – the immunobiological solution “Candidocyde” based on the associated antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi obtained by using ultrasound.

Most vaccines cause a suboptimal immunological response. Intensification of immunogenic response to the vaccine introduction is possible due to addition of different substances or adjuvants to the vaccine, they can increase the

vaccine activity, namely stimulate the antibody synthesis and inhibit the absorption of antigens [1].

Vaccines can be adsorbed on aluminium hydroxide, aluminium phosphate, calcium phosphate or other similar adsorbents prepared under special conditions that provide the appropriate physical state and adsorption properties [1, 5, 9].

Stability of each adjuvant individually or in combination with antigen/antigens, especially for critical parameters, is determined in the process of development [4, 7]. It should be noted that there are a lot of investigations concerning the harmful effects of these adjuvants on the human body [11-14]. That is why before introducing an adjuvant into the composition of vaccines it is necessary to verify that the effect obtained will be sufficiently significant.

The immunobiological solution “Candidocyde” developed contains the antigens of *C. albicans* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and *C. tropicalis* fungi with the protein concentration of 5 mg/ml in the ratio of 1:1, i.e.

Table 1

Efficiency of the immunobiological solution “Candidocyde” with the adjuvants studied in prevention of candidiases, n=6

Drug	Experimental animals					
	1	2	3	4	5	6
	Results in 1 month					
A	-	+	-	-	-	-
B	+	-	-		+	-
Control	-	-	+	+	-	-
Results in 3 months						
A	-	+	-	-	+	-
B	-	-	+	+	-	-
Control	+	-	-	-	-	+

Note:

- 1) A – the immunobiological substance with aluminium hydroxide adjuvant; B – the immunobiological substance with aluminium phosphate adjuvant;
- 2) «-» – absence of the disease, «+» – a mild form of the disease, «+ +» – a moderate form of the disease, «+ + +» – an advanced form of the disease;
- 3) n – is the number of animals in a group.

the total protein concentration is 4 mg/ml. Taking into account that the immunobiological solution proposed in the given protein concentration possesses 100% activity when preventing and treating candidiases it is expedient to study the adjuvant introduction to the composition of the diluted immunobiological solution with the concentration of 3 mg/ml.

The aim of this work is to substantiate experimentally advisability of introducing an adjuvant to the composition of the immunobiological solution based on the antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi.

Materials and Methods

The immunobiological solution with the protein concentration of 3 mg/ml was researched with different adjuvants. The following adjuvants were studied: aluminium hydroxide and aluminium phosphate. The adjuvant content in one dose should not exceed 1.1 mg/ml, i.e. 0.2 ml of the immunobiological solution developed should contain 0.22 mg. The adjuvants under study were added separately into the immunobiological solution obtained. The complex of the immunobiological sub-

stance with the adjuvant was placed in the thermostat and incubated at the temperature of $37 \pm 2^\circ\text{C}$ while constant stirring at the rotation rate of 20 rpm for 1 day. Then sorption of the adjuvant and antigen was checked. For this purpose the solution obtained was centrifuged at the rotation rate of 3000 rpm for 15 min. After that the precipitate was separated and the presence of the residual protein in the oversoda liquid was determined by the Lowry protein assay. In case of the protein absence the conclusion can be made that the complete sorption of the adjuvant and antigen occurred.

The immunobiological solution with different adjuvants was assessed as for its efficiency when preventing candidiases in the experiments in healthy two month white mice weighing 18-22 g. There were six animals in the control and experimental groups each; they were kept in the same conditions on a standard diet. Before the research the animals acclimatized themselves under experimental room conditions. Mice were injected intramuscularly 0.2 ml of the immunobiological solution with the adjuvants studied in the upper part of the rear right paw. In

14 days 0.2 ml of the immunobiological solution with the adjuvants studied was injected again in the upper part of the left rear paw. The animals of the control group were injected with the immunobiological solution without adjuvants. The experimental animals of one group were infected intraperitoneally in a month after the second injection, and in 3 months the second group was infected. For this purpose the suspension of *Candida albicans* fungi of CCM 335-867 strain in the amount of 20 mln. of cells and *Candida tropicalis* of ATTC 20336 strain in the amount of 60 mln. of cells in the volume of 1 ml was used; the strains were introduced with an interval of 1 hour. In 14 days the animals were examined and the results were determined.

The test results were considered according to the number of various manifestations of the disease and were estimated by the following scheme: (-) – the absence of manifestations of the disease; a mild form of the disease (+) – unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, dysfunctions of the excretory organs; a moderate form of the disease (+ +) – adynamia, unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, contractures of the neck muscles, the lateral location of the body, dysfunctions of the excretory organs, when examining the mucous membranes of natural orifices the signs of pathological processes, plating of fungi with faeces were revealed; an advanced form of the disease (+ + +) – adynamia, unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, contractures of the neck muscles, paralysis of the limbs, convulsions, the lateral location of the body, dysfunctions of the excretory organs, during the autopsy when examining the mucous membranes of natural orifices, internal organs of the animals the signs of such pathological processes as microabscesses in the renal cortical layer, lungs, spleen, liver, etc., isolation of retrocultures of fungi from the animals' organs were

revealed. This method was developed by the authors.

The therapeutic efficiency of the immunobiological solution with different adjuvants was investigated similarly to the method described above; the only difference was that the animals were infected with a contagium at first, and in 5 days two injections were made according to the scheme described. After that in 14 days the animals were examined and the results were determined.

Results and Discussion

According to the results of the research conducted it has been found that sorption of the adjuvants and antigen studied occurs completely; the negative test on protein detection by the Lowry protein assay indicates it after completion of the process.

The immunobiological solution "Candidocyde" with aluminium phosphate as an adjuvant in one month after repeated injection protected against infection 67% of animals, in 3 months – 67% of animals. The immunobiological solution with aluminium hydroxide as an adjuvant in one month after repeated injection of the drug protected against infection 83% of animals, in 3 months – 67% of animals. The experimental animals showed the signs of a mild form of the disease: unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, dysfunctions of the excretory organs. The immunobiological solution without the adjuvants provides protection against infection 67% of mice in one and 3 months (Table 1).

The therapeutic efficiency of the immunobiological solution with all adjuvants was 83%. The therapeutic effect started to manifest in 10-14 days after the first injection,

The therapeutic efficiency of the immunobiological solution "Candidocyde" with the adjuvants studied in candidiases, n=6

Animals	Drug					
	A		B		Control	
	Result					
	After infection	After the second injection	After infection	After the second injection	After infection	After the second injection
1	++	-	+	-	+	-
2	+	+	++	-	++	+
3	++	-	++	-	+	-
4	+	-	++	+	++	-
5	++	-	+	-	+	-
6	++	-	++	-	++	-

Note:

1) A – the immunobiological substance with aluminium hydroxide adjuvant; B – the immunobiological substance with aluminium phosphate adjuvant;

2) «-» – absence of the disease, «+» – a mild form of the disease, «++» – a moderate form of the disease, «+++» – an advanced form of the disease;

3) n – is the number of animals in a group.

and in 10-14 days after the repeated injection there was a complete recovery of the animals. The experimental animals showed the signs of a mild form of the disease: unkempt appearance, refusal to eat, the body weight loss, dysfunctions of the excretory organs. The immunobiological solution without adjuvants gives the therapeutic effect in 83% of mice (Table 2).

Taking into account that addition of adjuvants to the composition of the immunobiological solution "Candidocyde" has not provided efficiency increase when preventing and treating candidal infections, as well as considering the fact that the immunobiological solution without adjuvants contains fewer excipients, it is more expedient not to use adjuvants. This decision is also based on a large number of data about the pernicious influence of adjuvants on the human body. It should be also noted that during storage adsorbed vaccines form a precipitate at the bottom of the container, and it negatively affects the further use of the immunobiological drug.

CONCLUSIONS

According to the results of the research conducted it has been found that the immunobiological solution "Candidocyde" based on the antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and the adjuvant under study with two intramuscular injections in the volume of 0.2 ml does not provide efficiency increase when preventing and treating candidal infections. Therefore, the adjuvant introduction into the composition of the immunobiological solution "Candidocyde" is impractical.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

According to the results of the research conducted it has been found that the immunobiological solution "Candidocyde" based on the antigens of *C. albicans* and *C. tropicalis* fungi with the protein concentration of 3 mg/ml and the adjuvant under study with two intramuscular injections in the volume of 0.2 ml does not provide efficiency increase when preventing and treating candidal infections. Therefore, the adjuvant introduction into the composition of the immunobiological solution "Candidocyde" is impractical.

REFERENCES

1. Атауллаханов Р.И., Хаитов Р.М. // Иммунол. – 2011. – Т. 32, №1. – С. 37-45.
2. Голубка О.В. // Annals of Mechnikov Institute. – 2011. – №2. – С. 51-59.
3. Жукова Н.В., Кривошеева И.М. // Кримський терапевт. журн. – 2013. – №2. – С. 99-104.
4. Краснопольский Ю.М., Борщевская М.И. Фармацевтическая биотехнология. Технология производства иммунобиологических препаратов. – Х.: НТУ «ХПИ», 2009. – 352 с.

5. Перцев І.М., Дмитрієвський Д.І., Рибачук В.Д. та ін. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: Навч. посіб. / За ред. І.М.Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 598 с.
6. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммуногены и вакцины нового поколения. – М.: ГЭОСТАР-Медицина, 2011. – 608 с.
7. Чуєшов В.І., Гладух Є.В., Сайко І.В. та ін. Технологія ліків промислового виробництва: Підруч. для студ. вищ. навч. закл.: у 2-х ч. – 2-е вид., перероб. і доп. – Х.: НФаУ; Оригінал, 2012. – Ч. 1. – 694 с.
8. Cassone A. // *Nature Rev. Microbiol.* – 2013. – Vol. 11. – P. 884-891.
9. Exley C., Siesjo P., Eriksson H. // *Trends Immunol.* – 2010. – Vol. 4, №23. – P. 103-109.
10. Grover A., Bhandari B.S., Rai N., Lakhera P.C. // *Biotechnol. Intern.* – 2010. – Vol. 3, №1. – P. 4-17.
11. Shaw C.A., Petrik M.S. // *J. Inorg. Biochem.* – 2009. – Vol. 11, №103. – P. 1555-1562.
12. Shoenfeld Y., Agmon-Levin N. // *J. Autoimmunol.* – 2011. – Vol. 1, №36. – P. 4-8.
13. Tomljenovic L. // *J. Alzheimers. Dis.* – 2011. – Vol. 4, №23. – P. 567-598.
14. Tomljenovic L., Shaw C.A. // *Current Med. Chemistry.* – 2011. – №18. – P. 2630-2637.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ВВЕДЕННЯ АД'ЮВАНТУ ДО СКЛАДУ ІМУНОБІОЛОГІЧНОГО РОЗЧИНУ «КАНДИДОЦИД»

М.В.Рибалкін, Н.І.Філімонова

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: кандидамікоз; антиген; вакцина; імунітет; ад'ювант

Захворюваність на кандидоз зростає у всьому світі, і це пов'язують з широким використанням антибактеріальних препаратів, гормональних засобів, цитостатиків. Для боротьби з кандидозною інфекцією останніми роками активно ведуться дослідження в усьому світі з розробки вакцин проти кандидамікозів. Ученими на базі Національного фармацевтичного університету на кафедрі біотехнології та мікробіології, вірусології та імунології було розроблено потенційну вакцину – імунобіологічний розчин «Кандидоцид» на основі поєднаних антигенів грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*, одержаних при використанні ультразвуку. З метою експериментального обґрунтування доцільності введення ад'юванту до складу розробленого імунобіологічного розчину «Кандидоцид» для попередження та лікування кандидозної інфекції на основі антигенів грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* з концентрацією білка 3 мг/мл були виготовлені і досліджені зразки розчину «Кандидоцид» окремо з ад'ювантами гідроксидом алюмінію та фосфатом алюмінію. Дослідження проводили на білих мишах по 6 тварин у групі. Дослідні зразки вводили двократно внутрішньом'язово по 0,2 мл з інтервалом 14 діб. У результаті проведених досліджень встановлено, що імунобіологічний розчин «Кандидоцид» на основі антигенів грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* з концентрацією білка 3 мг/мл з досліджуваними ад'ювантами при двократному внутрішньом'язовому введенні по 0,2 мл не забезпечує підвищення ефективності при попередженні та лікуванні кандидозної інфекції. Тому введення ад'юванту до складу імунобіологічного розчину «Кандидоцид» недоцільне.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ВВЕДЕНИЯ АДЪЮВАНТА В СОСТАВ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА «КАНДИДОЦИД»

Н.В.Рыбалкин, Н.И.Филимонова

Национальный фармацевтический университет

Ключевые слова: кандидамикоз; антиген; вакцина; иммунитет; адъювант

Показатель заболевания кандидозом растет по всему миру, и это связывают с широким использованием антибактериальных препаратов, гормональных средств, цитостатиков. Для борьбы с кандидозной инфекцией в последние годы активно ведутся исследования во всем мире по разработке вакцин против кандидамикозов. Учеными на базе Национального фармацевтического университета на кафедре биотехнологии и микробиологии, вирусологии и иммунологии была разработана потенциальная вакцина – иммунобиологический раствор «Кандидоцид» на основе объединенных антигенов грибков *C. albicans* и *C. tropicalis*, полученных при использовании ультразвука. С целью экспериментального обоснования целесообразности введения адъюванта в состав разработанного иммунобиологического раствора «Кандидоцид» для предупреждения и лечения кандидозной инфекции на основе антигенов грибов *C. albicans* и *C. tropicalis* с концентрацией белка 3 мг/мл были изготовлены и исследованы образцы раствора «Кандидоцид» отдельно с адъювантами гидроксидом алюминия и фосфатом алюминия. Исследования проводились на белых мышах по 6 животных в группе. Опытные образцы вводили двукратно внутримышечно по 0,2 мл с интервалом 14 дней. В результате проведенных исследований установлено, что иммунобиологический раствор «Кандидоцид» на основе антигенов грибов *C. albicans* и *C. tropicalis* с концентрацией белка 3 мг/мл с исследуемыми адъювантами при двукратном внутримышечном введении по 0,2 мл не обеспечивает повышение эффективности при предупреждении и лечении кандидозной инфекции. Поэтому введение адъюванта в состав иммунобиологического раствора «Кандидоцид» нецелесообразно.

Address for correspondence:

12, Melnikov str., Kharkiv, 61002, Ukraine.

Tel. (057) 706-47-87. E-mail: Ribalkin.Nikolay@mail.ru.

National University of Pharmacy

Received in 03.10.2014

УДК 615.281.8:582.936.1

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LIPOPHILIC COMPLEXES FROM BEDSTRAWS AGAINST MICROORGANISMS OF *ENTEROBACTERIACEAE* FAMILY

O.V.Goryacha, N.V.Kashpur*, T.V.Ilyina, A.M.Kovalyova

National University of Pharmacy

State Institution "Institute of Microbiology and Immunology named after I.I.Mechnikov of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"*

Key words: bedstraws; lipophilic complexes; antibacterial activity; method of serial dilutions

A high level of antibiotic resistance of representatives of Escherichia, Proteus, Klebsiella, Shigella and Salmonella genus makes urgent and prospective the search of new substances that are active in relation to these microorganisms. For the first time the antibacterial activity of lipophilic complexes of biologically active substances (BAS) from bedstraw species of the Ukrainian flora in relation to 11 test strains of Enterobacteriaceae family has been found. The lipophilic complex of Galium cruciata herb (Cruciata laevipez) revealed the highest activity against the test cultures. Microorganisms of Escherichia, Klebsiella and Salmonella genus were highly sensitive (MIC was 31.25 µg/ml; MBC was 62.5 µg/ml), test strains of Proteus and Shigella showed a moderate sensitivity to this lipophilic complex (MIC – 125 µg/ml; MBC – 250 µg/ml). All the test strains revealed a low sensitivity to the lipophilic complexes of BAS from Galium verum and Galium salicifolium herbs. The range of microorganisms sensitivity can be an indirect argument for systematic transfer of cruciform bedstraw to Cruciata genus under the name of Cruciata laevipez.

The family of *Enterobacteriaceae* comprises more than 30 genera, among which *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Shigella* and *Salmonella* are of the highest epidemiological significance. The representatives of these taxonomic groups are characterized by a high level of virulence and resistance to antibiotics [1, 7]. Thus, the search of new substances, particularly of the plant origin that are active in relation to these microorganisms, is urgent and promising.

We have found a wide spectrum of the antibacterial and antifungal activity of complexes of biologically active substances (BAS) obtained from Bedstraw species of the Ukrainian flora [2-5].

The aim of this research was to study the antibacterial activity of lipophilic complexes of BAS from Bedstraw species against the

representatives of *Enterobacteriaceae* family.

Materials and Methods

The objects of the research were lipophilic complexes of BAS obtained by the method of exhaustive extraction of the plant raw material – herb of *Galium verum*, *Galium salicifolium*, *Galium dasypodium* and *Galium cruciata* (*Cruciata laevipez*) with chloroform in a Soxhlet apparatus.

The activity of complexes were studied against 11 museum strains of microorganisms from *Enterobacteriaceae* family – *Escherichia coli* 25922, *Escherichia coli* 113-3, *Proteus vulgaris* 4636, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9127, *Klebsiella rhinoscleromatis* 1624, *Shigella sonnei* 3719-S, *Shigella flexneri* 4157, *Shigella flexneri* 1547, *Salmonella enteritidis* 53, *Salmonella typhi* 19348 and *Salmonella typhimu-*

rium 353. The level of sensitivity was determined by the serial dilution method [6].

Results and Discussion

Minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) of the complexes studied against the test-strains of *Enterobacteriaceae* family are presented in Table.

The lipophilic complex of *Galium cruciata* herb exhibited the highest activity in relation to microorganisms of *Escherichia*, *Klebsiella* and *Salmonella* genus (MIC – 31.25 µg/ml; MBC – 62.5 µg/ml).

Test-cultures of *Proteus* and *Shigella* were enough sensitive to the lipophilic complex of *Galium dasypodium* herb (MIC – 62.5 µg/ml; MBC – 125 µg/ml); the lipophilic complex of *Galium cruciata* herb revealed the moderate activity (MIC – 125 µg/ml; MBC – 250 µg/ml) in relation to *Proteus* and *Shigella* genus.

Activities of other lipophilic complexes in relation to all test-strains were also the lowest – MIC and MBC were 250 µg/ml and 500 µg/ml, respectively.

O.V.Goryacha – Candidate of Pharmacy, assistant of the Department of Pharmacognosy, National University of Pharmacy (Kharkiv)

N.V. Kashpur – senior researcher of the Immunorehabilitation laboratory at the State Institution "Institute of Microbiology and Immunology named after I.I.Mechnikov of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" (Kharkiv)

Table

The activity level of lipophilic complexes from Bedstraw species against the test-strains of microorganisms of *Enterobacteriaceae* family

Test-strain	Lipophilic complexes							
	Galium verum		Galium salicifolium		Galium dasypodum		Galium cruciata	
	MIC and MBC, µg/ml							
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Escherichia coli</i> 25922	250.00	500.00	250.00	500.00	250.00	500.00	31.25	62.50
<i>Escherichia coli</i> 113-3	250.00	500.00	250.00	500.00	250.00	500.00	31.25	62.50
<i>Proteus vulgaris</i> 4636	250.00	500.00	250.00	500.00	62.50	125.00	125.00	250.00
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9127	250.00	500.00	250.00	500.00	250.00	500.00	31.25	62.50
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> 1624	250.00	500.00	250.00	500.00	250.00	500.00	31.25	62.50
<i>Shigella sonnei</i> 3719-S	250.00	500.00	250.00	500.00	62.50	125.00	125.00	250.00
<i>Shigella flexneri</i> 4157	250.00	500.00	250.00	500.00	62.50	125.00	125.00	250.00
<i>Shigella flexneri</i> 1547	250.00	500.00	250.00	500.00	62.50	125.00	125.00	250.00
<i>Salmonella enteritidis</i> 53	250.00	500.00	250.00	500.00	250.00	500.00	31.25	62.50
<i>Salmonella typhi</i> 19348	250.00	500.00	250.00	500.00	250.00	500.00	31.25	62.50
<i>Salmonella typhimurium</i> 353	250.00	500.00	250.00	500.00	250.00	500.00	31.25	62.50

The range of microorganisms sensitivity can be an indirect argument for the systematic transfer of *Galium cruciata* to *Cruciata* genus under the name of *Cruciata laevipez*.

CONCLUSIONS

1. For the first time the antibacterial activity of lipophilic complexes of biologically active sub-

stances (BAS) from bedstraw species of the Ukrainian flora in relation to 11 test strains of *Enterobacteriaceae* family has been studied.

2. The most active was the lipophilic complex of *Galium cruciata* herb (*Cruciata laevipez*). The high activity has been found in relation to microorganisms of *Escherichia*, *Klebsiella* and *Salmonella*

genus, and the moderate activity has been revealed in relation to the test strains of *Proteus* and *Shigella*.

3. The range of microorganisms sensitivity can be an indirect argument for the systematic transfer of *Galium cruciata* to *Cruciata* genus under the name of *Cruciata laevipez*.

REFERENCES

1. Гриценко В.А., Брудастов Ю.А., Шухман М.Г. и др. // Журн. микробиол., епидемиол. и иммунобиол. – 2009. – №4. – С. 107-111.
2. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2012. – №1 (8). – С. 7-9.
3. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, №4. – С. 50-53.
4. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, №1. – С. 48-51.
5. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, №2. – С. 55-58.
6. Методичні рекомендації «Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів». – К., 2004. – 38 с.
7. Мироненко Л.Г., Перетятко О.Г. // Холодна лабораторна діагностика. – 2011. – №1 (55). – С. 27-30.

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЛІПОФІЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ ПІДМАРЕННИКІВ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО МІКРООРГАНІЗМІВ РОДИНИ ENTEROBACTERIACEAE

О.В.Горяча, Н.В.Кашпур*, Т.В.Ільїна, А.М.Ковальова

Національний фармацевтичний університет, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України»*

Ключові слова: підмаренники; ліпофільні комплекси; антибактеріальна активність; метод серійних розведень

Вперше встановлено антибактеріальну активність ліпофільних комплексів біологічно активних речовин (БАР) видів роду підмаренник флори України по відношенню до 11 тест-штамів родини Enterobacteriaceae. Найбільшу активність до досліджуваних культур мікроорганізмів проявив ліпофільний комплекс трави підмаренника хрещатого (круціати гладенької). Встановлено, що мікроорганізми родів *Escherichia*, *Klebsiella* та *Salmonella*

є високочутливими, тест-штами Proteus та Shigella – середньочутливими до ліпофільного комплексу трави підмаренника хрещатого. По відношенню до ліпофільних комплексів БАВ трави підмаренника справжнього та підмаренника верболистого усі досліджувані тест-штами були малочутливими. Діапазон чутливості мікроорганізмів може служити непрямим аргументом системного перенесення підмаренника хрещатого до роду Круціата під назвою «Круціата гладенька».

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОФИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОДМАРЕННИКОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К МИКРООРГАНИЗМАМ СЕМЕЙСТВА ENTEROBACTERIACEAE

А.В.Горячая, Н.В.Кашпур*, Т.В.Ильина, А.М.Ковальова

Национальный фармацевтический университет, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И.Мечникова НАМН Украины»*

Ключевые слова: подмаренники; липофильные комплексы; антибактериальная активность; метод серийных разведений

Впервые установлена антибактериальная активность липофильных комплексов биологически активных веществ (БАВ) видов рода подмаренник флоры Украины по отношению к 11 тест-штаммам семейства Enterobacteriaceae. Наибольшую активность в отношении исследуемых культур микроорганизмов проявил липофильный комплекс травы подмаренника крестообразного (круциаты гладенькой). Установлено, что микроорганизмы родов Escherichia, Klebsiella и Salmonella являются высокочувствительными, тест-штаммы Proteus и Shigella – среднечувствительными к липофильному комплексу травы подмаренника крестообразного. По отношению к липофильным комплексам БАВ травы подмаренника настоящего и подмаренника иволлистного все исследуемые тест-штаммы были малочувствительны. Диапазон чувствительности микроорганизмов может служить непрямим аргументом системного отнесения подмаренника крестовидного к роду круциата под названием «Круциата гладенькая».

Address for correspondence:

4, Blyukher str., Kharkov, 61168, Ukraine.

Tel. (572) 67-92-08. E-mail: helga_gnosy@mail.ru.

National University of Pharmacy

Received in 22.09.2014

УДК 579.842.11:579.861.

ДІЯ АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ І СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ДОБОВІ БІОПЛІВКИ *S. AUREUS* ТА *E. COLI*

М.М.Попов, А.М.Коробов, С.Г.Маланчук, Н.І.Філімонова*, М.М.Мішина, Ю.М.Мішин****

Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна
Національний фармацевтичний університет*
Харківський національний медичний університет**

Ключові слова: антибактеріальні препарати; світлодіодне випромінювання; біоплівки; S. aureus; E. coli

THE ACTION OF ANTIMICROBIAL AGENTS AND THE LED RADIATION ON DAILY BIOFILMS OF *S. AUREUS* AND *E. COLI*

М.М.Попов, А.М.Коробов, С.Г.Маланчук, Н.І.Філімонова*, М.М.Мішина, Ю.М.Мішин****

Kharkiv National University named after V.N. Karazin, National University of Pharmacy, Kharkiv National Medical University***

Key words: antibiotics; LED radiation; biofilm; S. aureus; E. coli

Estimating the results of the antimicrobial action and the LED radiation on diurnal S. aureus and E. coli biofilms it has been found that under the complex effects using optical emission of the orange spectrum and β -lactam antimicrobial drugs the density of biofilms was 1.5 times higher than the control values; under the action of the drug from the group of fluoroquinolones levofloxacin and the orange LED emission spectrum the density of daily S. aureus biofilm was 42.8 times reduced, and E. coli decreased by 18.9 times compared to the control. When determining the impact of the green radiation spectrum together with β -lactam antimicrobial drugs on daily biofilms of multiresistant strains there is inhibition of the density of isolates biofilm of both S. aureus and E. coli compared to the control. In a complex application of levofloxacin and the green LED emission spectrum the destruction of daily biofilms of multiresistant isolates of S. aureus by 2.4 times and E. coli by 3.1 times has been determined compared to the control. The similar results have been reported in determining the ability of irradiated planktonic cells to form the secondary biofilms: the lowest density of the secondary biofilm is registered in application of the optical radiation of the violet spectrum in combination with levofloxacin: the density of the secondary S. aureus biofilm reduced by 52.4, and the density of the E. coli biofilm reduced by 39.3 times compared to the control. As a result of this study the possibility of using the incoherent optical radiation of the violet spectrum with levofloxacin, which is a photosensitizer and contributes to decrease in the proliferative activity and the ability to form biofilms of multiresistant isolates of S. aureus and E. coli and increase their antibiotics resistance, in the treatment of inflammatory processes has been substantiated.

В останні роки в структурі гнійно-запальних захворювань безперервно зростає відсоток інфекцій, зумовлених полірезистентними мікроорганізмами, зокрема *S. aureus* та *E. coli* [9, 10]. Резистентність мікроорганізмів до багатьох антимікробних препаратів на сьогоднішній день є актуальною проблемою. У літературі описані випадки вилу-

чення полірезистентних ізолятів *S. aureus* та *E. coli* як результат при неефективності антимікробних препаратів з призначенням більш агресивної антибактеріальної терапії [1]. Встановлено, що *S. aureus* та *E. coli* часто виявляються на катетерах, суглобових імплантатах, венфлонах і утворюють щільні біоплівки [6, 11]. Поширення стійких до лікарських препаратів

форм патогенних бактерій, що знижує ефективність традиційних антимікробних засобів, які застосовуються у стаціонарах, і необхідність розробки способів пригнічення формування бактеріями біоплівки ставлять питання про нові стратегії для боротьби з гнійно-запальними захворюваннями та про розробку нових підходів до створення схем комплексної терапії, що впливають на специфічні біохімічні та біофізичні системи мікроорганізмів.

Матеріали та методи

Предметом дослідження були антибактеріальні препарати: амоксиклав, левофлоксацин і цефтриаксон та ізоляти *S. aure-*

М.М.Попов – доктор мед. наук, професор, директор ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова Національної академії медичних наук України», завідувач кафедри загальної та клінічної імунології та алергології Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна

Н.І.Філімонова – доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

М.М.Мішина – доктор мед. наук, професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету

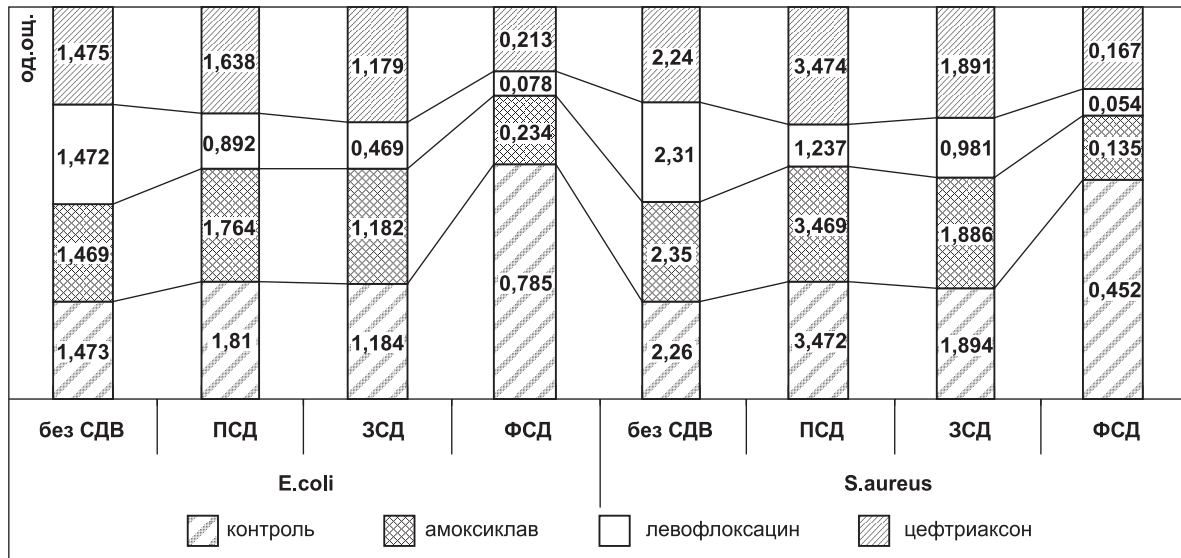


Рис. 1. Дія дослідних препаратів і оптичного випромінювання на добові біоплівки полірезистентних ізолятів *S. aureus* і *E. coli*

us й *E. coli*, вилучені з венфлонів і дренажних конструкцій та від хворих з гнійно-запальними процесами [5]. Ферментативну ідентифікацію проводили за допомогою ідентифікаційних наборів МІКРО-ЛА-ТЕСТ®. Чутливість ізолятів до антимікробних засобів з різним механізмом дії на мікробну клітину вивчали за допомогою мікротестсистеми з напівкількісною реєстрацією результатів «ТНКтестГр». Синхронізація періодичної культури шляхом селекції (метод Мітчсона і Вінсента). Синхронізація періодичних культур досліджуваних штамів проводилася після встановлення кінетики росту асинхронної культури. Встановлювався режим періодичного культивування таким чином, щоб протягом експоненціального росту клітинна маса збільшувалась в об'ємі від двох до п'яти разів.

Приготування суспензій ізолятів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводилося за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу з додаванням дослідних антибактеріальних препаратів та поживного середовища. Вимірювання оптичної щільності

біоплівки *S. aureus* і *E. coli* проводили після добової інкубації при $t=37^{\circ}\text{C}$ та за порівнянням оптичної щільності дослідних і контрольних сформованих біоплівок і робили висновок про ступінь формування біоплівок. Планктонні клітини, що були вилучені з добових біоплівок, інокулювали у комірки планшету, додавали суспензійне поживне середовище і термостатували у вологій камері протягом доби. Далі оцінювали ступінь агрегації мікробних клітин. Кількісним вираженням ступеня формування біоплівки і здатності до агрегації планктонних клітин є значення оптичної щільності на спектрофотометрі «Multiskan EX 355» при 540 нм. Результат визначався в умовних одиницях оптичної щільності (од. оц.) біоплівкоутворення мікроорганізмами [8].

Опромінення *in vitro* проводилось світлодіодними джерелами помаранчевого (590-600 нм), зеленого (490-570 нм) і фіолетового (380-430 нм) випромінювання фотонної матриці апарату Коровова «Барва-Флекс» [2], що містить світлодіодну матрицю з суперлюмінісцентними світлодіодами (24 шт.) і блок живлення.

Для статистичної обробки результатів використовували про-

граму Excel для персонального комп'ютера і Biostat [4, 7].

Результати та їх обговорення

Оцінюючи результати визначення дії антимікробних препаратів і світлодіодного випромінювання на добові біоплівки *S. aureus* і *E. coli* було встановлено (рис. 1), що під комплексним впливом із застосуванням оптичного випромінювання помаранчевого спектра та β -лактамних антимікробних препаратів щільність біоплівок була у 1,5 рази вище за контрольні значення і складала: при застосуванні амоксициклаву в ізолятив *S. aureus* – $3,469 \pm 0,06$ од. оц. та $2,35 \pm 0,08$ од. оц.; у 1,2 рази в ізолятив *E. coli* – $1,764 \pm 0,09$ од. оц. та $1,469 \pm 0,05$ од. оц.; при застосуванні цефтріаксону – в ізолятив *S. aureus*: $3,474 \pm 0,03$ од. оц. та $2,24 \pm 0,06$ од. оц. та *E. coli* – $1,638 \pm 0,09$ од. оц. та $1,475 \pm 0,05$ од. оц. При комплексному застосуванні препарату з групи фторохінолонів левофлоксацину і світлодіодного випромінювання помаранчевого спектра спостерігалось зниження щільності добової біоплівки *S. aureus* у 42,8 рази ($0,054 \pm 0,09$ од. оц. та $2,31 \pm 0,07$ од. оц.) і *E. coli* – у 18,9 рази ($0,078 \pm 0,08$ од. оц.

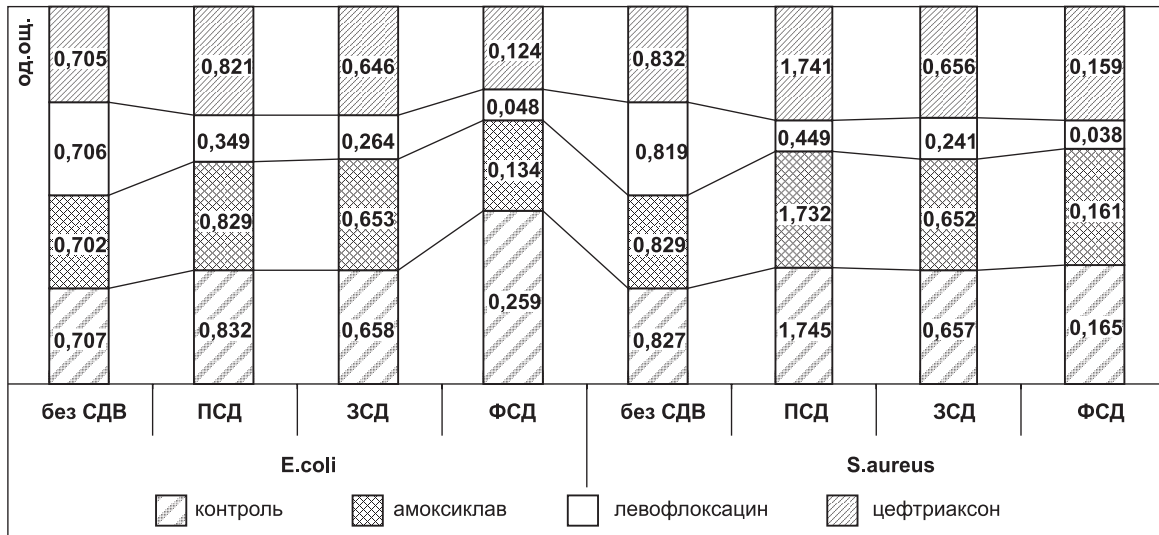


Рис. 2. Продукція планктонних клітин добовими біоплівками полірезистентних ізолятів *S. aureus* і *E. coli* після дії на них дослідних препаратів і оптичного випромінювання

та $1,472 \pm 0,06$ од. оц. відповідно) порівняно з контролем.

При визначенні впливу низькоінтенсивного некогерентного випромінювання зеленого спектра разом з β -лактаміними антимікробними препаратами на добові біоплівки полірезистентних штамів спостерігається тенденція до пригнічення щільності біоплівки ізоляту як *S. aureus* (амоксиклав – $1,886 \pm 0,09$ од. оц. та $2,35 \pm 0,08$ од. оц.; цефтриаксон – $1,891 \pm 0,05$ од. оц. та $2,24 \pm 0,06$ од. оц.), так і *E. coli* (амоксиклав – $1,182 \pm 0,09$ од. оц. та $1,469 \pm 0,05$ од. оц.; цефтриаксон – $1,179 \pm 0,04$ од. оц. та $1,475 \pm 0,05$ од. оц.) порівняно з контролем. А при комплексному застосуванні левофлоксацину і світлодіодного випромінювання зеленого спектра встановлено руйнування добових біоплівок полірезистентних ізолятів *S. aureus* у 2,4 рази ($0,981 \pm 0,02$ од. оц. та $2,31 \pm 0,07$ од. оц.), а *E. coli* у 3,1 рази ($0,469 \pm 0,08$ од. оц. та $1,472 \pm 0,06$ од. оц. відповідно) порівняно з контролем.

Застосування антимікробних препаратів і світлодіодного випромінювання фіолетового спектра привело до зниження щільності добових біоплівок *S. aureus*: у 17,4 рази при застосуванні амоксиклаву ($0,135 \pm 0,08$ од. оц. та $2,35 \pm 0,08$ од. оц.),

у 13,4 рази при застосуванні цефтриаксону ($0,167 \pm 0,07$ од. оц. та $2,24 \pm 0,06$ од. оц.) та у 42,8 рази в комплексі з левофлоксацином ($0,054 \pm 0,009$ од. оц. та $2,31 \pm 0,07$ од. оц. відповідно). Аналогічні результати одержані при дослідженні антимікробних препаратів і світлодіодного випромінювання фіолетового спектра на добові біоплівки полірезистентних ізолятів *E. coli*: у 6,3 рази при застосуванні амоксиклаву ($0,234 \pm 0,03$ од. оц. та $1,469 \pm 0,05$ од. оц.), у 7 разів при застосуванні цефтриаксону ($0,213 \pm 0,06$ од. оц. та $1,475 \pm 0,05$ од. оц. відповідно) та у 18,9 рази в комплексі з левофлоксацином ($0,078 \pm 0,009$ од. оц. та $1,472 \pm 0,06$ од. оц. відповідно) порівняно з контролем.

При визначенні здатності добових біоплівок полірезистентних штамів *S. aureus* і *E. coli* після дії світлодіодного випромінювання та β -лактаміних антимікробних препаратів продукувати планктонні клітини встановлено, що при дії помаранчевого спектра спостерігається підвищення проліферативної активності ізолятами *S. aureus* у 2,1 рази порівняно з контролем (при застосуванні амоксиклаву – $1,732 \pm 0,09$ од. оц. і $0,829 \pm 0,08$ од. оц. та при застосуванні цефтриаксону – $1,741 \pm$

$\pm 0,06$ од. оц. і $0,832 \pm 0,09$ од. оц. відповідно) та спостерігається тенденція до проліферації планктонних клітин полірезистентних штамів *E. coli* (при застосуванні амоксиклаву – $0,829 \pm 0,02$ од. оц. і $0,707 \pm 0,05$ од. оц. та при застосуванні цефтриаксону – $0,821 \pm 0,04$ од. оц. і $0,705 \pm 0,09$ од. оц. відповідно) (рис. 2).

При комплексному застосуванні препарату з групи фторхінолонів левофлоксацину і світлодіодного випромінювання помаранчевого спектра встановлено пригнічення продукції планктонних клітин *S. aureus* у 1,8 рази $0,449 \pm 0,08$ од. оц. та $0,819 \pm 0,04$ од. оц., а *E. coli* – у 2 рази: $0,349 \pm 0,03$ од. оц. та $0,706 \pm 0,07$ од. оц. відповідно. При застосуванні світлодіодного випромінювання фіолетового спектра та левофлоксацину пригнічення продукції планктонних клітин добовими біоплівками *E. coli* – 14,7 рази ($0,048 \pm 0,06$ од. оц. та $0,706 \pm 0,07$ од. оц. відповідно) та *S. aureus* – 21,6 рази ($0,038 \pm 0,02$ од. оц. та $0,819 \pm 0,04$ од. оц.) порівняно з контролем.

Аналогічні результати були зафіксовані при визначенні здатності планктонних клітин опроміненими добовими біоплівками з інокульованими антимікробними препаратами: найменша щільність вторинної біоплів-

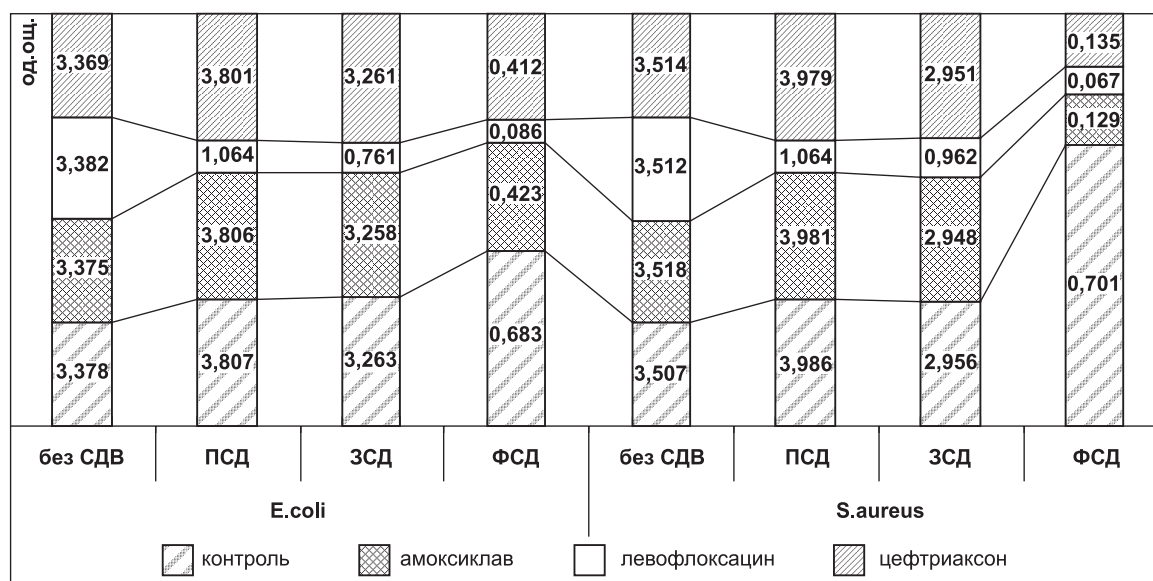


Рис. 3. Утворення вторинних біоплівок планктонними клітинами *S. aureus* і *E. coli* після дії дослідних препаратів і оптичного випромінювання на добову біоплівку полірезистентних ізолятів

ки зареєстрована при застосуванні оптичного випромінювання фіолетового спектра комплексно з левофлоксацином: щільність вторинної біоплівки *S. aureus* знижена у 52,4 рази ($0,067 \pm 0,04$ од. оц. та $3,512 \pm 0,08$ од. оц.) і у 39,3 рази – знижена щільність вторинної біоплівки *E. coli* ($0,086 \pm 0,05$ од. оц. та $3,382 \pm 0,09$ од. оц. відповідно) порівняно з контролем (рис. 3).

Таким чином, у результаті даного дослідження обґрунтовано можливість застосування у комплексній терапії гнійно-запальних процесів низько-

інтенсивного некогерентного оптичного випромінювання фіолетового спектра з левофлоксацином, який є фотосенсибілізатором [3], що сприяє пригніченню проліферативної активності і здатності до формування біоплівки полірезистентних ізолятів *S. aureus* та *E. coli* та підвищенню їх антибіотичної чутливості. Отже, найважливішою фенотипічною властивістю ізолятів, що забезпечує в сучасних умовах виживання бактерій у стаціонарі, а також в організмі пацієнта при існуванні інфекційного процесу, є

біоплівка. В біоплівці у мікроорганізмів підвищена стійкість до антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів, що створює труднощі в лікуванні і збільшує частоту виникнення внутрішньолікарняних інфекцій. У зв'язку з цим використання світлодіодного випромінювання фіолетового спектра з антимікробним препаратом левофлоксацином сприяє руйнуванню вже сформованих добових біоплівки і запобігає формуванню нових біоплівки та, як наслідок, антибіотикорезистентних штамів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Іваниця В.О., Галкін М.Б. // Мікробіол. і біотехнол. – 2011. – №2. – С. 8-22.
2. Коробов А.М., Коробов В.А., Лесная Т.А. Фототерапевтические аппараты Коробова серии «Барва». – Х.: ИПП «Контраст», 2008. – 176 с.
3. Курочкина А.Ю., Плавский В.Ю., Юдина Н.А. Классификации фотосенсибилизаторов антимикробной фотодинамической терапии / Белорусская медицинская академия последипломного образования, Институт физики НАН Беларуси [Электронный ресурс]: режим доступа до журналу <http://www.bsmu.by>.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.
5. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях / Прилож. 1 к Приказу Министерства здравоохранения СССР №535 от 22 апреля 1985 г. – 123 с.
6. Мирошниченко И.И., Зачиняев Я.В., Зачиняева А.В. // Иммунопатол., алергол., инфектол. – 2009. – №1. – С. 27.
7. Осипов В.П., Лукьянова Е.М., Антипкин Ю.Г. и др. Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях. – К.: Планета людей, 2002. – 200 с.

8. Пат. на корисну модель 47944 Україна, МПК G 09 B 23/00. Спосіб відтворення біоплівки мікроорганізмів *in vitro* / А.Я.Циганенко, М.М.Мишина, Р.А. Курбанов (UA); Харк. націон. мед. ун-т. – № u200910353; Заявл.: 12.10.2009. Опубл.: 25.02.2010. – Бюл. №4.
9. Фадеев С.Б., Чевычалова Е.В., Сгибнев А.В., Бадьянова Е.В. Видовое разнообразие возбудителей хирургической инфекции мягких тканей, вызванной микробными ассоциациями // Сб. тр. V науч.-практ. конф. врачей Приволжско-Уральского Военного округа. – Оренбург, 2004. – С. 326-327.
10. Фадеев С.Б., Тарасенко В.С., Стадников Б.А., Казеннов А.Н. Изменение видового состава возбудителей хирургической инфекции мягких тканей // Тезисы 11-й науч. конф. Европейского общества химиотерапии инфекционных заболеваний и 6-й Рос. конф. «Современные проблемы антибактериальной терапии». – М., 2004. – С. 30.
11. Brinkmann V., Laube Br., Abed U. et al. // J. of Visualized Experiments. – 2010. – Vol. 36. – P. 1724.
12. Rešliński A., Mikucka A., Szmytkowski J. // Pol. J. Microbiol. – 2009. – №58 (4). – P. 367-369.
13. Stewart P.S. Antibiotic tolerance in biofilms and its role in persistent infections / In: 11-th Intern. Congr. on infectious dis. Cancun, Mexico. – 2004. Abstr. №56.002.
14. Weigel L.M. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2007. – Vol. 51, №1. – P. 231-238.
15. Wolcott R.D. // J. Wound Care. – 2010. – Vol. 19, №2. – P. 45-50, 52-53.

ДІЯ АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ І СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ДОБОВІ БІОПЛІВКИ S. AUREUS І E. COLI

М.М.Попов, А.М.Коробов, С.Г.Маланчук, Н.І.Філімонова*, М.М.Мишина, Ю.М.Мишин****

Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна, Національний фармацевтичний університет*, Харківський національний медичний університет**

Ключові слова: антибактеріальні препарати; світлодіодне випромінювання; біоплівки; *S. aureus*; *E. coli*

Оцінюючи результати щодо визначення дії антимікробних препаратів і світлодіодного випромінювання на добові біоплівки *S. aureus* і *E. coli* було встановлено, що під комплексним впливом із застосуванням оптичного випромінювання помаранчевого спектра та β-лактамних антимікробних препаратів щільність біоплівок була у 1,5 рази вища за контрольні значення, препарату з групи фторхінолонів левофлоксацину і світлодіодного випромінювання помаранчевого спектра зниження щільності добової біоплівки *S. aureus* у 42,8 рази а *E. coli* – у 18,9 рази порівняно з контролем. При визначенні впливу випромінювання зеленого спектра разом з β-лактамними антимікробними препаратами на добові біоплівки полірезистентних штамів спостерігається пригнічення щільності біоплівки ізолятів як *S. aureus*, так і *E. coli* порівняно з контролем. А при комплексному застосуванні левофлоксацину і світлодіодного випромінювання зеленого спектра встановлено руйнування добових біоплівок полірезистентних ізолятів *S. aureus* у 2,4 рази, а *E. coli* у 3,1 рази порівняно з контролем. Застосування антимікробних препаратів і світлодіодного випромінювання фіолетового спектра призвело до зниження щільності добових біоплівок *S. aureus* у 17,4 рази при застосуванні амокциклаву, у 13,4 рази при застосуванні цефтриаксону та у 42,8 рази в комплексі з левофлоксацином. Аналогічні результати були зафіксовані при визначенні здатності опромінених планктонних клітин утворювати вторинні біоплівки: найменша щільність вторинної біоплівки зареєстрована при застосуванні оптичного випромінювання фіолетового спектра комплексно з левофлоксацином: щільність вторинної біоплівки *S. aureus* знизена у 52,4 та у 39,3 рази – знизена щільність вторинної біоплівки *E. coli* порівняно з контролем. У результаті цього дослідження обґрунтовано можливість застосування у комплексній терапії гнійно-запальних процесів низькоінтенсивного некогерентного оптичного випромінювання фіолетового спектра з левофлоксацином, який є фотосенсибілізатором та сприяє пригніченню проліферативної активності і здатності до формування біоплівок полірезистентних ізолятів *S. aureus* та *E. coli* і підвищенню їх антибіотикочутливості.

ДЕЙСТВИЕ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СУТОЧНЫЕ БИОПЛЕНКИ S. AUREUS И E. COLI

М.М.Попов, А.М.Коробов, С.Г.Маланчук, Н.И.Филимонова*, М.М.Мишина, Ю.М.Мишин****

Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина, Национальный фармацевтический университет*, Харьковский национальный медицинский университет**

Ключевые слова: антибактериальные препараты; светодиодное излучение; биопленки; *S. aureus*; *E. coli*

Оценивая результаты действия противомикробных препаратов и светодиодного излучения на суточные биопленки *S. aureus* и *E. coli*, было установлено, что под комплексным воздействием с применением оптического излучения оранжевого спектра и β-лактамных противомикробных препаратов плотность биопленок была в 1,5 раза выше контрольных значений, препарата из группы фторхинолонов левофлоксацина и светодиодного излучения оранжевого спектра наблюдалось снижение плотности суточной биопленки *S. aureus* в 42,8 раз; а *E. coli* – в 18,9 раз по сравнению с контролем. При определении влияния излучения зеленого спектра вместе с β-лактамными антимикробными препаратами на суточные биопленки полирезистентных штаммов наблюдается угнетение плотности биопленки изолятов как *S. aureus*, так и *E. coli* по сравнению с контролем. А при комплексном применении левофлоксацина и светодиодного излучения зеленого спектра установлено разрушение суточных биопленок полирезистентных изолятов *S. aureus* в 2,4 раз, а *E. coli* в 3,1 раз по срав-

*нению с контролем. Аналогичные результаты были зафиксированы при определении способности облученных планктонных клеток образовывать вторичные биопленки: наименьшая плотность вторичной биопленки зарегистрирована при применении оптического излучения фиолетового спектра комплексно с левофлоксацином: плотность вторичной биопленки *S.aureus* снижена в 52,4 и в 39,3 раза – снижена плотность вторичной биопленки *E.coli* сравнению с контролем. В результате данного исследования обоснована возможность применения в комплексной терапии гнойно-воспалительных процессов низкоинтенсивного некогерентного оптического излучения фиолетового спектра с левофлоксацином, который является фотосенсибилизатором и способствует подавлению пролиферативной активности и способности к формированию биопленок полирезистентных изолятов *S. aureus* и *E. coli* и повышению их антибиотикочувствительности.*

Адреса для листування:

61022, м. Харків, пр. Леніна, 4.

Тел. (57) 707-72-90. E-mail: mishina1969@mail.ru.

Харківський національний медичний університет

Надійшла до редакції 24.09.2014 р.

УДК 615.32:615.451.1:615.276

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ ВОДНОГО ТА СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗЛОТИСТОГО

О.І.Набока, С.З.Хуарі, О.Ю.Кошова, А.В.Глуценко*

Національний фармацевтичний університет
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного університету*

Ключові слова: гепатит; гепатопротектори; мембраностабілізуюча дія; ласкавець золотистий

THE STUDY OF PHARMACODYNAMICS OF ALCOHOLIC AND AQUEOUS EXTRACTS FROM *BUPLEURUM AUREUM FISCH.*

O.I.Naboka, S.Z.Khouari, O.Yu.Koshevaya, A.V.Glushchenko*

National University of Pharmacy, Institute for Continuing Education of Pharmacy Professionals at the National University of Pharmacy*

Key words: hepatitis; hepatoprotectors; membrane-stabilizing action; *Bupleurum aureum*

*Drug-induced liver injury has approximately 10 percent of adverse effects associated with pharmacotherapy. This issue is particularly important to pediatrics. The multifactorial pathogenesis of the liver injury identifies the prospects of finding new hepatoprotectors of the plant origin with a wide spectrum of the pharmacological activity. *Bupleurum aureum* (hare's ear) has long been used in folk medicine for the liver diseases treatment. This plant has a choleric, wound-healing, and tonic effect. Aqueous and alcoholic extracts of *Bupleurum aureum* contain a large amount of flavonoids (quercetin, isorhamnetin, rutin, narcissine), tannins and phytosterols. The aim of this study was to investigate the potential hepatoprotective and membrane-stabilizing effects of herbal extracts of the aerial part of *Bupleurum Aureum* on carbon tetrachloride-induced hepatitis in vivo. The study of pharmacodynamics of alcoholic and aqueous extracts from *Bupleurum aureum* Fisch. was carried out under conditions of the rats' acute experimental hepatitis caused by tetrachloromethane. It has been found that prophylactic introduction of extracts of the aerial part of *Bupleurum Aureum* to rats restores the bile secretion and synthetic function of the liver. It has been determined that the herbal extracts studied have hepatoprotective and membrane protective properties. High effectiveness and a wide spectrum of pharmacological properties of extracts of *Bupleurum Aureum* can be described by their chemical composition. The alcoholic extract of *Bupleurum aureum* has been found to possess the maximum efficiency. This extract is not inferior to found reference drugs "Silibor" and "Quercetine".*

Однією з найважливіших проблем гепатології є ураження печінки ліками, які складають 10% від побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням фармакологічних засобів. Особливо актуальною ця проблема є для педіатрії через недосконалість детоксикаційної системи печінки у дітей. Незважаючи на достатньо широкий арсенал гепатопротекторних засобів, проблема ефективної терапії уражень печінки залишається невирішеною. На сьогодні підвищується інтерес до лікарських рослин як джерела різноманітних біологічно активних речовин, які забезпечують широкий спектр фармакологіч-

ної активності засобу [7-9], що дозволяє впливати одразу на різні ланки патогенезу захворювань печінки. Однією з таких рослин є ласкавець золотистий (*Bupleurum aureum* Fisch.), який здавна застосовується в народній медицині для лікування захворювань печінки, виявляє жовчогінну, ранозагоювальну і тонізуючу дію. На кафедрі якості, стандартизації та сертифікації ліків ІПКСФ під керівництвом доцента Глуценко А.В. були розроблені водний та спиртовий екстракти з трави ласкавця золотистого, які містять флавоноїди (кверцетин, рутин, ізорамнетин, нарцисин), дубильні речовини та фітостерини. Аналіз

фітохімічного складу дозволяє припустити наявність у екстрактів антиоксидантної та гепатопротекторної дії [7, 9].

Метою даного дослідження стало вивчення мембранопротекторної та жовчогінної дії водного та 50% спиртового екстрактів ласкавця золотистого за умов гострого гепатиту.

Матеріали та методи

Досліди проведені на 46 щурах самцях масою 180-200 г. У період експериментів дослідні тварини знаходилися в стандартних санітарних умовах: при T° 19-24 $^{\circ}$ C, вологості не більше 50%, природному світловому режимі «день-ніч», на стандартному харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з санітарно-гігієнічними нормами та принципами «Європейської конвенції про за-

О.І.Набока – доктор біол. наук, професор, завідувач кафедри біології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

А.В.Глуценко – канд. фармацевт. наук, доцент кафедри стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

хист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Strasburg, 1986) відповідно до норм GLP [4].

Тварин поділили на 6 груп по 7 тварин у кожній: 1 група – негативний контроль (дистильована вода); 2 група – позитивний контроль (тетрахлорометан); 3 і 4 групи – відповідно водний та спиртовий екстракти ласкавця золотистого; 5 і 6 групи – препарати порівняння відповідно капсули «Силібор» та гранули «Кверцетин», які є аналогами за фармакологічною дією. Рослинні екстракти вводили у профілактичному режимі внутрішньошлунково один раз на день у дозі 5 мг/кг протягом 4-х діб. Капсули «Силібор» та гранули «Кверцетин» вводили в аналогічному режимі у дозах 100 мг/кг і 50 мг/кг відповідно. Після останнього введення досліджуваних засобів тваринам вводили внутрішньошлунково тетрахлорометан (ТХМ) у дозі 0,8 мл/100 г маси тварин у вигляді 50% олійного розчину [2]. Контролем служили тварини, яким вводили воду (негативний контроль). Через 24 год після введення ТХМ проводили дослідження жовчоутворювальної та синтетичної функції печінки тварин та визначали стан мембран еритроцитів, які є уніфікованою тест-системою для визначення мембранопротекторних властивостей засобів [3].

Жовчоутворювальну та синтетичну функції печінки тварин вивчали згідно з методичними рекомендаціями [2]. Для цього наприкінці експерименту щурів наркотизували розчином тіопенталу натрію у дозі 35 мг/кг. Жовч збирали годинними порціями протягом 3 год. Для визначення інтенсивності жовчовиділення розраховували швидкість секреції жовчі за три години спостереження в мг/хв $\times 100 \text{ г}^{-1}$. Синтетичну функцію печінки оцінювали за вмістом жовчних кислот і холестерину в ній [3]. Піс-

ля збору жовчі тварин виводили з експерименту шляхом декапітації, вилучали й зважували печінку для визначення інтегрального показника стану загальнотрофічних процесів – масового коефіцієнта печінки.

Мембранопротекторні властивості досліджуваних екстрактів ласкавця золотистого вивчали за методом визначення спонтанного гемолізу еритроцитів за Ягером [1]. Даний метод заснований на вимірюванні концентрації позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить у сироватку крові внаслідок лізису мембран еритроцитів, викликаного перекисним окисненням ліпідів киснем повітря. Через 24 години після введення ТХМ у всіх тварин брали кров із хвостової вени, готували суспензію еритроцитів і визначали ступінь гемолізу у дослідних і контрольній групах ($\lambda = 540 \text{ nm}$). Розрахунок проводили за формулою:

$$X = \frac{(E1 + E2)}{2E3} \times 100\%,$$

де: $E1$ – екстинкція першої проби з робочим розчином; $E2$ – екстинкція другої проби з робочим розчином; $E3$ – екстинкція проби з дистильованою водою.

Отримані експериментальні дані статистично обробляли методами варіаційної статистики (вираховували середнє арифметичне та його стандартну похибку). При застосуванні методів математичної статистики був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$. Для отримання статистичних висновків використовували параметричний критерій Ньюмана-Кейлса. Для проведення математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм «Statistica, v. 6,0» (StatSoft inc. USA).

Результати та їх обговорення

Отримані результати вивчення жовчосекреторної та синте-

тичної функції печінки наведені у табл. 1. Введення ТХМ викликало порушення функціонального стану печінки щурів з групи позитивного контролю. Спостерігали зниження швидкості секреції та порушення літогенних властивостей жовчі, про що свідчить достовірне підвищення холатохолестеринового коефіцієнта (ХХК) у 3,4 рази внаслідок підвищення вмісту холестерину у жовчі (табл. 1). Поряд з цим спостерігалось достовірне підвищення масового коефіцієнта печінки, що вказує на розвиток набряку та альтерації органу під впливом гепатотоксину.

Профілактичне введення водного та спиртового екстрактів не в однаковій мірі сприяло зниженню проявів гепатотоксичності ТХМ. Найбільш виражену захисну дію виявив спиртовий екстракт ласкавця золотистого. На тлі застосування засобу у щурів відновлювалася швидкість секреції жовчі, її літогенні властивості, про що свідчить нормалізація ХХК (табл. 1). Проте, масовий коефіцієнт печінки залишався на рівні тварин з групи позитивного контролю (табл. 1).

Менш виражену захисну дію визначено у водного екстракту ласкавця золотистого. Під впливом екстракту спостерігалася тільки невиразна тенденція до нормалізації досліджуваних показників (табл. 1).

Введення препаратів порівняння також чинило захисну дію на печінку тварин. Значення більшості досліджуваних показників не відрізнялися від значень тварин з групи негативного контролю (табл. 1). Проте найбільшу гепатопротекторну дію виявили капсули «Силібор», на тлі застосування якого відновлювалися як жовчогінна, так і секреторна функції печінки (табл. 1).

Отже, профілактичне застосування досліджуваних засобів сприяло зменшенню проявів гепатотоксичності ТХМ, відновленню жовчосекреторної та син-

Таблиця 1

Вплив водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого на функціональний стан печінки щурів за умов гострого гепатиту, викликаного тетрахлорометаном

Показники	Групи тварин					
	інтактний контроль	позитивний контроль	екстракт ласкавця золотистого, 5 мг/кг		гранули «Кверцетин» 50 мг/кг	капсули «Силібор», 100 мг/кг
			спиртовий	водний		
МКП, г/100 г	3,0±0,1	4,3±0,2*	4,4±0,2*	4,1±0,1*	4,0±0,3*	4,1±0,2*
Швидкість секреції жовчі, мл/100 г × год ⁻¹	1,00±0,07	0,60±0,05*	0,79±0,08	1,05±0,03**	0,67±0,06*/α	0,96±0,09**
Вміст жовчних кислот у жовчі, мг%/мл/100 г × год ⁻¹	532±35	353±45	486±61	728±72**	345±55	584±81
Вміст холестеролу у жовчі, мг%/мл/100 г × год ⁻¹	11,5±1,7	25,6±4,4*	21,8±1,6	17,3±3,3	13,7±2,8**	15,1±1,9**
Холато-холестероловий коефіцієнт	51±6	15±1*	26±6	55±15**	29±6	41±7

Примітки:

- 1) * – відмінності статистично значущі щодо групи інтактного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 2) ** – відмінності статистично значущі щодо групи позитивного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 3) α – відмінності статистично значущі щодо групи препарату порівняння капсул «Силібор», $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса).

тетичної функції печінки. Найбільш виразні гепатопротекторні властивості визначено у спиртового екстракту ласкавця золотистого, ефективність якого за виразністю дії не поступалася препаратам порівняння капсулам «Силібор» та гранулам «Кверцетин».

Результати з вивчення мембранопротекторної дії досліджуваних екстрактів наведені у табл. 2. Механізм гепатотоксичної дії ТХМ полягає в активації вільнорадикального окиснення ліпідів, що призводить до порушення структури і функції мембранного апарату клітини, змін функціональної активності мембранозв'язаних монооксигеназ в ендоплазматичному ретикулумі, пригнічення процесів трансформації ксенобіотиків та ендогенних метаболітів, зниження активності білоксинтетичних процесів [5, 6, 10]. Як показало проведене дослідження, введення ТХМ значно порушувало фізичні властивості мембран еритроцитів, збільшуючи лізис клітин майже у 2 рази (47,80±1,46% проти 24,74±1,40 в групі негативного контролю, табл. 2). Профі-

Таблиця 2

Вплив водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого на спонтанний лізис еритроцитів щурів за умов гострого гепатиту, викликаного тетрахлорометаном

Експериментальні групи	Виразність гемолізу, %	Активність, %
Негативний контроль	24,74±1,40	–
Позитивний контроль (CCl ₄)	47,80±1,46*	–
Водний екстракт ласкавця золотистого +CCl ₄	34,87±4,42*/**/α/β	27
Спиртовий екстракт ласкавця золотистого +CCl ₄	23,31±1,47**	51
Гранули «Кверцетин», 50 мг/кг+CCl ₄	27,76±2,57**	42
Капсули «Силібор», 100 мг/кг+CCl ₄	21,82±2,95**	54

Примітки:

- 1) * – відмінності статистично значущі щодо групи інтактного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 2) ** – відмінності статистично значущі щодо групи позитивного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 3) α – відмінності статистично значущі щодо групи препарату порівняння капсул «Силібор», $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 4) β – відмінності статистично значущі щодо групи препарату порівняння гранул «Кверцетин», $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса).

лактичне застосування водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого сприяло зниженню ступеня лізису еритроцитів у 1,4 і 2 рази у порівнянні з позитивним контролем. Мембранопротекторна активність водного екстракту ласкавця зо-

лотистого складала 27%, спиртового – 51% (табл. 2). Препарати порівняння гранули «Кверцетин» та капсули «Силібор» виявили практично однакову мембраностабілізуючу активність, яка складала 42% і 54% відповідно.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що при профілактичному введенні екстракту ласкавця золотистого виявляють гепатопротекторні властивості, а саме відновлюють

жовчосекреторну та синтетичну функцію печінки, а також виявляють мембранопротекторну дію. Найбільшу ефективність за умов гострого тетрахлорометанового гепатиту ви-

явив 50% спиртовий екстракт ласкавця золотистого, який за виразністю дії не поступався препаратам порівняння гранулам «Кверцетин» та капсулам «Силібор».

ЛІТЕРАТУРА

1. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Кравченко В.М. та ін. *Посібник до лабораторних і семінарських занять з біологічної хімії.* – Х.: Основа, 1996. – 432 с.
2. Дрогозов С.М., Губський Ю.І., Скакун М.П. та ін. *Експериментальне вивчення жовчогінної, холелітіазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів / В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. реком. за ред. чл-кор. НАМН України О.В. Стефанова.* – К., 2001. – С. 334-351.
3. Мирошніченко В.П., Громашевская Л.Л., Касаткина М.Г., Козачек Г.А. // *Лаб. дело.* – 1978. – №3. – С. 149-153.
4. *Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой.* – К.: МОРИОН, 1999. – С. 508-545.
5. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. *Клиническая фармакология гепатопротекторов.* – Тернополь: Збруч, 1995. – 272 с.
6. Ahamed K.M.B., Krishna V., Chethan J.D. // *European J. of Pharmacol.* – 2010. – Vol. 631, №1-3. – P. 42-52.
7. Liu C.T., Chuang P.T., Wu C.Y. et al. // *Phytother. Res.* – 2006. – Vol. 20, №11. – P. 1003-1008.
8. Robak Jadwiga, Gryglewski Ryszara J. // *Pol. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 48, №6. – P. 555-564.
9. Zhao W., Li J.J., Yue S.Q. et al. // *Carbohydr. Polym.* – 2012. – Vol. 89, №2. – P. 448-452.
10. Wang B.J., Liu C.T., Tseng C.Y. et al. // *Food. Chem. Toxicol.* – 2004. – Vol. 42, №4. – P. 609-617.

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ ВОДНОГО ТА СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗОЛОТИСТОГО

О.І.Набока, С.З.Хуарі, О.Ю.Кошова, А.В.Глуценко*

Національний фармацевтичний університет, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету*

Ключові слова: гепатит; гепатопротектори; мембраностабілізуюча дія; ласкавець золотистий

Ураження печінки ліками складають 10% від побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням фармакологічних засобів. Особливо актуальною ця проблема є для педіатрії. Багатофакторність патогенезу уражень печінки визначає перспективність пошуку нових гепатопротекторів серед лікарських рослин, які виявляють широкий спектр фармакологічної дії. Однією з таких рослин є ласкавець золотистий (*Vipreurum aureum* Fisch.), який здавна застосовується в народній медицині для лікування захворювань печінки, виявляє жовчогінну, ранозагоювальну та тонізуючу дію. Об'єктом дослідження стали водний та спиртовий екстракти з трави ласкавця золотистого, які містять флавоноїди (кверцетин, рутин, ізорамнетин, нарцисин), дубильні речовини та фітостерини, що дозволяє припустити наявність у екстрактів гепатопротекторної дії. На щурах з гострим тетрахлорометановим гепатитом проведено вивчення фармакодинаміки водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого. Встановлено, що за умов профілактичного введення екстракти ласкавця золотистого виявляють гепатопротекторні властивості, а саме відновлюють жовчосекреторну і синтетичну функцію печінки, а також виявляють мембранопротекторну дію. Профілактичне введення водного та спиртового екстрактів не в однаковій мірі сприяло зниженню проявів гепатотоксичності ТХМ. На тлі застосування засобу у щурів відновлювалася швидкість секреції жовчі, її літогенні властивості, про що свідчить нормалізація холестеринового коефіцієнта. Проте масовий коефіцієнт печінки залишався на рівні тварин з групи позитивного контролю. Найбільшу ефективність визначено у спиртового екстракту ласкавця золотистого, який за виразністю дії не поступався препаратам порівняння гранулам «Кверцетин» і капсулам «Силібор».

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОДИНАМИКИ ВОДНОГО И СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТОВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ

О.И.Набока, С.З.Хуарри, Е.Ю.Кошова, А.В.Глуценко*

Национальный фармацевтический университет, Институт повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета*

Ключевые слова: гепатит; гепатопротекторы; мембраностабилизирующее действие; володушка золотистая

Лекарственные поражения печени составляют 10% от побочных реакций, связанных с применением фармакологических средств. Особенно актуальной эта проблема является для педиатрии. Многофакторность патогенеза поражений печени определяет перспективность поиска новых гепатопротекторов среди лекарственных

растений, которые проявляют широкий спектр фармакологической активности. Одним из таких растений является володушка золотистая (Viregum aureum Fisch.), которая издавна применяется в народной медицине для лечения заболеваний печени, оказывает желчегонное, ранозаживляющее и тонизирующее действие. Объектом исследования стали водный и спиртовой экстракты травы володушки золотистой, которые в своем составе содержат флавоноиды (кверцетин, рутин, изорамнетин, нарциссин), дубильные вещества и фитостерин, что позволяет предположить наличие у экстрактов гепатопротекторного действия. На крысах с острым тетрахлорметановым гепатитом проведено изучение фармакодинамики водного и спиртового экстрактов володушки золотистой. Установлено, что при профилактическом введении экстракты володушки золотистой оказывают гепатопротекторные свойства: восстанавливают желчсекреторную и синтетическую функцию печени, а также мембранопротекторное действие. Профилактическое введение водного и спиртового экстрактов в различной степени способствовало снижению проявлений гепатотоксичности тетрахлорметана (ТХМ). На фоне применения средства у крыс восстанавливалась скорость секреции желчи, ее литогенные свойства, о чем свидетельствует нормализация холатахолестеринового коэффициента. Однако, массовый коэффициент печени оставался на уровне животных из группы положительного контроля. Наибольшая эффективность была выявлена у спиртового экстракта володушки золотистой, который по выраженности действия не уступал препаратам сравнения гранулам «Кверцетин» и капсулам «Силибор».

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Тел. (57) 706-23-42. E-mail: elen_kosh@mail.ru.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 03.10.2014 р.

УДК 615.322:001.891

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З АНТИМІКРОБНОЮ ДІЄЮ У ШЛУНКОВИХ ЗБОРАХ

А.І.Федосов, В.С.Кисличенко, О.А.Кисличенко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: рослинні збори; антимікробна активність; шлункові захворювання; біологічно активні речовини; ефірна олія; поліфенольні сполуки

QUANTITATIVE DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES WITH THE ANTIMICROBIAL ACTION IN GASTRIC TEAS

A.I.Fedosov, V.S.Kyslychenko, O.A.Kyslychenko

National University of Pharmacy

Key words: herbal teas; antimicrobial activity; gastric diseases; biologically active substances; essential oil; polyphenolic compounds

Herbal teas with the astringent, anti-inflammatory, antihemorrhagic, reparative and antimicrobial activity are often used for treatment of gastric diseases. Two teas have been suggested – gastric tea and gastric tea No.3. Gastric tea consists of chamomile flowers, yarrow herb, calendula flowers, St. John's wort herb and peppermint leaves. Gastric tea No.3 contains buckthorn bark, nettle leaves, peppermint leaves, valeriana rhizomes with roots and sweetflag rhizomes. Gastric herbal teas can be used for a long time for treating chronic gastro-intestinal system diseases and as a complex treatment of acute pathology. Biologically active compounds of these teas contain essential oils, tannins, flavonoids, hydroxycinnamic acids, compounds of the terpenoid origin and mineral elements. The results of quantitative determination of essential oil and the amount of polyphenolic compounds in gastric tea and gastric tea No.3 are given; these specific classes of compounds exactly show the antimicrobial activity. The quantitative content of essential oil was determined with the help of hydro-distillation, and the content of the amount of polyphenolic compounds – by spectrophotometry. According to the results obtained the essential oil content in gastric tea was 0.85%, in gastric tea No.3 – 0.98%. The polyphenolic compounds content in gastric tea was 7.46%, in gastric tea No.3 – 8.34%. This particular content of the biologically active substances determines the antimicrobial activity of gastric teas. The data obtained shows the prospects for further research of the biologically active substances of gastric teas revealing the antimicrobial activity.

Фармацевтичний ринок України має недостатній асортимент лікарських препаратів на основі лікарської рослинної сировини, особливо це стосується засобів для терапії органів травлення.

Пошук нових препаратів з лікарської рослинної сировини є актуальним для практичної медицини та фармації нашої країни. Для їх розробки доцільно використовувати рослинні джерела, які широко розповсюджені на території України, мають достатню сировинну базу і дозволені до медичного застосування МОЗ України.

В терапії захворювань шлунково-кишкового тракту широко застосовують рослинні збори з різними механізмами дії, в тому числі й антимікробної [4].

Для лікування шлункових захворювань нами запропоно-

вано два збори – шлунковий та шлунковий збір №3.

- Шлунковий збір
 - Ромашки квітки 1 частина
 - Деревію трава 1 частина
 - Нагідок квітки 1 частина
 - Звіробой трава 1 частина
 - М'яти перцевої листя 1 частина
- Шлунковий збір №3
 - Крушини кора 3 частини
 - Кропиви листя 3 частини
 - М'яти перцевої листя 2 частини
 - Валеріани кореневища з коренями 1 частина
 - Лепехи кореневища 1 частина

Компоненти запропонованих зборів виявляють протизапальну, антимікробну, спазмолітичну активність.

Вивчення антимікробної активності водних витяжок з розроблених зборів показало актив-

ність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis* та *E. coli*.

За антимікробну активність перш за все відповідають ефірні олії та поліфенольні сполуки компонентів зборів [5-13].

Тому метою нашої роботи було визначення кількісного вмісту ефірної олії та суми поліфенольних сполук у шлунковому зборі та шлунковому зборі №3.

Матеріали та методи

Багатокомпонентність складу зборів обумовлює пошук оптимальних способів аналізу і стандартизації їх біологічно активних речовин. Для цього широко використовується спектрофотометричний метод визначення вмісту поліфенольних сполук, який є достатньо точним, не вимагає багато часу, дає можливість економно витратити реактиви. Цей метод включений до Міжнародної, Європейської, Української фармакопеї та фармакопей провідних країн світу.

Здатність фенольних сполук поглинати в УФ-області зумовлює використання цього методу для стандартизації лікарської рослинної сировини і її препаратів.

Тому для визначення вмісту поліфенольних сполук у шлункових зборах нами було обрано саме спектрофотометричний метод.

Для кількісного визначення ефірної олії використовували фармакопейний метод перегонки з водяною парою. Цей метод є достатньо точним, доступним, дає можливість використання в невеликих аналітичних лабораторіях, не потребує коштовного обладнання.

Таким чином, методом перегонки з водяною парою в апараті Клевенджера було отримано та визначено кількісний вміст ефірної олії в шлунковому зборі та шлунковому зборі №3. Методом спектрофотометрії в зазначених зборах був визначений кількісний вміст суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту [1, 2, 3].

1,0 г (точна наважка) збору вміщували в колбу зі шліфом ємністю 100 мл, приливали 30 мл 70% спирту етилового та ек-

трагували впродовж 30 хв на водяній бані. Екстракцію повторювали ще двічі. Витяжку фільтрували через паперовий фільтр у мірну колбу ємністю 100 мл, доводили 70% спиртом етиловим до позначки (розчин А).

1 мл розчину А поміщали в мірну колбу ємністю 25 мл і доводили 96% спиртом етиловим до позначки. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 270 нм на спектрофотометрі Optizen POP. Паралельно вимірювали оптичну густину фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) галової кислоти, для чого 1 мл розчину ФСЗ галової кислоти поміщали в колбу ємністю 25 мл і доводили 96% спиртом етиловим до позначки.

Приготування розчину ФСЗ галової кислоти. 0,0077 г (точна наважка) галової кислоти розчиняли в мірній колбі ємністю 25 мл у 96% спирті етиловому.

Вміст фенольних сполук (X, %) в перерахунку на галову кислоту розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

де: А – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина ФСЗ галової кислоти;
 m_0 – маса ФСЗ галової кислоти, г;
 m – маса наважки сировини, г;
 W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Результати та їх обговорення

У результаті проведених досліджень було встановлено кількісний вміст ефірної олії та поліфенольних сполук у зборах. Кількісний вміст ефірної олії для шлункового збору становив 0,85%, для шлункового збору №3 – 0,98%. Кількісний вміст поліфенольних сполук для шлункового збору сягав 7,46%, для шлункового збору №3 – 8,34%.

Такий кількісний вміст досліджуваних біологічно активних речовин зумовлює антимікробну активність шлункових зборів.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено кількісний вміст ефірної олії та суми поліфенольних сполук у шлунковому зборі та шлунковому зборі №3.

2. Отримані дані свідчать про доцільність подальших досліджень біологічно активних речовин шлункових зборів, які виявляють антимікробну активність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бурда Н.Є., Журавель І.О., Кисличенко В.С. та ін. // *Укр. мед. альманах*. – 2010. – Т. 13, №5. – С. 51-53.
2. Волошина А.А., Кисличенко В.С., Журавель І.О., Бурда Н.Є. // *Укр. журн. клін. та лабораторної медицини*. – 2012. – Т. 7, №4. – С. 202-203.
3. *Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр»*. – 1-е вид. – Х.: PIPEG, 2001. – Дон. 1. – 2004. – 520 с.
4. *Системная фитотерапия: Учебное пособие / Под ред. В.С.Кисличенко, А.В.Зайченко, И.А.Журавель*. – Х.: Изд-во НФаУ; «Золотые страницы», 2008. – 256 с.
5. Ahmet Alim, Ismihan Goze, Ali Cetin et al. // *African J. of Microbiol. Res.* – 2009. – Vol. 3 (8). – P. 422-425.
6. Alves M.J., Ferreira I.C., Froufe H.J. et al. // *J. Appl. Microbiol.* – 2013. – Vol. 115 (2). – P. 346-357.
7. Antonio Carraturo, Katia Raieta, Idolo Tedesco // *British Microbiol. Res. J.* – 2014. – Vol. 4 (1). – P. 18-27.
8. Christina E. Maddox, Lisa M. Laur, Li Tian // *Current Microbiol.* – 2010. – Vol. 60 (1). – P. 53-58.
9. Julien Sfeir, Corinne Lefrançois, Dominique Baudoux et al. // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-9.
10. Leon W. Nitiema, Aly Savadogo, Jacques Simporé et al. // *Intern. J. of Microbiol. Res.* – 2012. – Vol. 3 (3). – P. 183-187.
11. Manoj G.S., Murugan K. // *Ind. J. of Natural Products and Resources*. – 2012. – Vol. 3 (2). – P. 173-183.
12. Marina Soković, Jasmina Glamočlija, Petar D. Marin et al. // *Molecules*. – 2010. – Vol. 15. – P. 7532-7546.
13. Sarabjot Kaur, Poonam Mondal // *J. Microbiol. Exp.* – 2014. – Vol. 1 (1). – P. 1-6.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З АНТИМІКРОБНОЮ ДІЄЮ У ШЛУНКОВИХ ЗБОРАХ**А.І.Федосов, В.С.Кисличенко, О.А.Кисличенко****Національний фармацевтичний університет**

Ключові слова: рослинні збори; антимікробна активність; шлункові захворювання; біологічно активні речовини; ефірна олія; поліфенольні сполуки

Для лікування шлункових захворювань застосовують рослинні збори, які виявляють в'язучу, протизапальну, антигеморагічну, репаративну та антимікробну активність. Нами запропоновано два збори – шлунковий та шлунковий збір №3. До складу шлункового збору входять ромашки квітки, деревію трава, нагідок квітки, звіробою трава, м'яти перцевої листя. До складу шлункового збору №3 входять крушини кора, кропиви листя, м'яти перцевої листя, валеріани кореневища з коренями, лепехи кореневища. Шлункові збори можна використовувати тривалий час при хронічних захворюваннях травної системи та у комплексному лікуванні гострих патологій. До складу біологічно активних речовин компонентів зборів входять ефірна олія, дубильні речовини, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, сполуки терпенової природи, мінеральні елементи. Наведені результати визначення кількісного вмісту ефірної олії та суми поліфенольних сполук у шлунковому зборі та шлунковому зборі №3, оскільки саме ці класи біологічно активних сполук виявляють антимікробну активність. Кількісний вміст ефірної олії визначали методом перегонки з водяною парою, кількісний вміст суми поліфенольних сполук – методом спектрофотометрії. За результатами проведених експериментів вміст ефірної олії для шлункового збору склав 0,85%, для шлункового збору №3 – 0,98%. Кількісний вміст поліфенольних сполук для шлункового збору сягав 7,46%, для шлункового збору №3 – 8,34%. Такий кількісний вміст досліджуваних біологічно активних речовин зумовлює антимікробну активність шлункових зборів. Отримані дані свідчать про доцільність подальших досліджень біологічно активних речовин шлункових зборів, які виявляють антимікробну активність.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ДЕЙСТВИЕМ В ЖЕЛУДОЧНЫХ СБОРАХ**А.И.Федосов, В.С.Кисличенко, А.А.Кисличенко****Национальный фармацевтический университет**

Ключевые слова: растительные сборы; антимикробная активность; желудочные заболевания; биологически активные вещества; эфирное масло; полифенольные соединения

Для лечения желудочных заболеваний применяют растительные сборы, которые проявляют вязущую, противовоспалительную, антигеморрагическую, репаративную и антимикробную активность. Нами предложены два сбора – желудочный и желудочный сбор №3. В состав желудочного сбора входят ромашки цветки, тысячелистника трава, календулы цветки, зверобоя трава, мяты перечной листья. В состав желудочного сбора №3 входят крушини кора, крапивы листья, мяты перечной листья, валерианы кореневища с корнями, аира кореневища. Желудочные сборы можно использовать длительное время при хронических заболеваниях пищеварительной системы и комплексном лечении острых патологий. В состав биологически активных веществ компонентов сборов входят эфирные масла, дубильные вещества, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, соединения терпеновой природы, минеральные элементы. Приведены результаты определения количественного содержания эфирного масла и суммы полифенольных соединений в желудочном сборе и желудочном сборе №3, потому что именно эти классы биологически активных веществ проявляют антимикробную активность. Количественное содержание эфирного масла определяли методом перегонки с водяным паром, количественное содержание суммы полифенольных соединений – методом спектрофотометрии. По результатам проведенных экспериментов содержание эфирного масла в желудочном сборе составило 0,85%, в желудочном сборе №3 – 0,98%. Количественное содержание полифенольных соединений в желудочном сборе – 7,46%, в желудочном сборе №3 – 8,34%. Такое содержание изучаемых биологически активных веществ обуславливает антимикробную активность желудочных сборов. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований биологически активных веществ желудочных сборов, которые проявляют антимикробную активность.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Тел. (572) 67-93-63. E-mail: cncvc@mail.ru.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 06.10.2014 р.

ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ МАТЕРІАЛІВ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В ЖУРНАЛІ “КЛІНІЧНА ФАРМАЦІЯ”

1. До розгляду приймаються статті, які не були опубліковані раніше та ті, які не знаходяться на розгляді до публікації в інших видавництвах.

2. Відповідальність за достовірність та оригінальність матеріалів несуть автори.

3. До розгляду приймаються оригінальні та інші види статей (до 6 сторінок), присвячені проблемам клінічної фармації. Перевага в опублікуванні надається статтям з клінічної фармакології, фармацевтичної опіки, фармакоелектроніки, лабораторної діагностики та біофармацевтичних досліджень. Сторінки журналу надаються також матеріалам з клінічної токсикології, експериментальної фармакології, побічної дії ліків та фармакотерапії.

3. Текст статті друкується кеглем №14 через 1,5 інтервали на аркуші формату А4 (ширина полів: зліва – 3 см, справа – 1 см, зверху та знизу – по 2 см) і починається з таких даних: назви статті, ініціалів та прізвищ всіх авторів, назви організації, у яких виконана робота, переліку ключових слів (понять) у кількості 4-6.

4. Автори повинні дотримуватись загального плану побудови статті:

4.1. Вступ. Містить короткий огляд раніше надрукованих робіт у досліджуваній галузі, зазначається актуальність тематики, мета роботи.

4.2. Матеріали та методи (Пацієнти та методи).

4.3. Результати та їх обговорення. Містять результати досліджень, зроблених автором.

4.4. Висновки.

4.5. Перелік використаної літератури, розташованої за алфавітом (спочатку кирилиця, потім – латинський шрифт).

5. Стаття супроводжується трьома рефератами українською, російською та англійською мовами у вигляді розширеної анотації обсягом 200-220 слів. Реферати повинні містити індекс УДК, назву статті, ініціали та прізвища всіх авторів, назву установ (-и).

Оскільки реферати виконують функцію незалежного від статті джерела інформації, вони мають бути інформативними (не містити лише загальні фрази), змістовними, структурованими (повторювати логіку опису результатів у статті), лаконічними і чіткими, з переконливими формулюваннями. Реферат англійською мовою має бути оригінальним (не бути калькою україно- або російськомовного варіанту).

6. Автори одночасно надають до редакції англійський текст статті для розміщення на сайті НФаУ (відповідальність за якість викладення матеріалів англійською мовою несуть автори).

7. Формули сполук подаються окремими файлами у форматі Corel Draw 13; діаграми та рисунки – у форматі Excel або Corel Draw 13; рисунки у вигляді фотографій можуть бути представлені файлами TIFF 300-600dpi Gray Scale (256 градаций сірого). Ширина графічного матеріалу повинна бути розміром 5,5 см, 11,5 см або 17,4 см.

8. У статтях повинна використовуватись система одиниць СІ.

9. Рисунки та підписи до них виконують окремо один від одного; підписи до всіх рисунків статті подаються на окремому аркуші. На зворотному боці кожного рисунка простим олівцем вказується його номер та назва статті, а в разі необхідності – верх і низ.

10. Таблиці повинні бути надруковані на окремих аркушах і мати нумерацію і заголовки. На полях рукопису необхідно вказати місце розміщення рисунків і таблиць. Інформація, наведена у таблицях і на рисунках, не повинна дублюватися.

11. Список літератури оформляється відповідно до «The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/?amp=&depth=2>).

11.1. Перелік літератури повинен містити публікації за останні 10 років. Більш ранні публікації допускаються лише в особливих випадках.

11.2. В оригінальних роботах цитують не більше 15 праць, а в оглядах – до 50.

11.3. До переліку літератури не включаються роботи, які ще не були надруковані.

11.4. Перелік літератури друкується на окремому аркуші.

11.5. У рукопису відсилки на літературу даються у квадратних дужках згідно зі списком літератури.

11.6. Нумерація джерел у переліку літератури здійснюється в алфавітному порядку.

11.7. Якщо наводяться роботи лише одного автора, вони розміщуються в хронологічному порядку стосовно дати їх публікації.

11.8. На кожен роботу у переліку літератури повинна бути зроблена відсилка в тексті рукопису.

12. Усі матеріали подаються до редакції на електронному (у форматі MS Word) та паперовому носії (два екземпляри) і супроводжуються експертним висновком, який дозволяє відкрити публікацію. Другий екземпляр статті обов'язково підписується всіма авторами.

13. Автори статей, поданих до редакції для публікації в журналі, своїми особистими підписами на примірниках рукописів статей засвідчують:

- згоду на ведення редакцією обліку необхідних для обробки статей особистих даних авторів (ПІБ, учене звання, учений ступінь, посада та місце роботи, адреса для листування, робочий телефон, електронна пошта) з метою забезпечення відносин у сфері права інтелектуальної власності, в тому числі авторського права;
- дозвіл на публікацію особистих даних авторів (ПІБ, учене звання, учений ступінь, місце роботи, робочий телефон, електронна пошта) в журналі разом зі статтею;
- згоду на оприлюднення повної електронної версії статті (або рефератів статті) на сайтах Національного фармацевтичного університету, Національної бібліотеки України ім. В.І.Вернадського та інших порталах наукової періодики з обов'язковим зазначенням та збереженням особистих немайнових авторських прав.

14. Стаття супроводжується направленням від організації, в якій виконана робота, на ім'я головного редактора.

15. До статті на окремому аркуші додаються (українською та англійською мовами) відомості про авторів, які містять: учене звання, учений ступінь; прізвище, ім'я та по батькові (повністю); місце роботи та посаду, яку обіймає автор; адресу для листування, номери телефонів і факсів, E-mail.

16. Редакція залишає за собою право редакційної правки статті.

17. При отриманні статті, яка оформлена з порушенням цих правил, редакція залишає за собою право статтю не рецензувати, не рецензувати та не повертати авторам, про що сповіщає авторів.

18. Статті, відіслані авторам на виправлення, повинні бути повернені до редакції не пізніше, ніж через 10 днів після одержання зауважень.

19. Відмова від публікації може не супроводжуватись поясненнями причини і не може вважатись негативним висновком щодо наукової або практичної цінності роботи.

20. Першочерговість при опублікуванні надається англійським статтям.

ЗМІСТ / CONTENTS / СОДЕРЖАНИЕ

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ФАРМАКОТЕРАПІЯ

ДОСВІД ВІДНОВЛЕННЯ КИШКОВОЇ МІКРОФЛОРИ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ ТА ХРОНІЧНУ МІЄЛОЇДНУ ЛЕЙКЕМІЮ / Л.М.Немировська, А.П.Рибальська	4
The experience of intestinal microflora restoration in patient with acute and chronic myeloid leukemia / L.M.Nemyrovska, A.P.Rybalska	
Опыт восстановления кишечной микрофлоры у больных острой и хронической миелоидной лейкемией / Л.Н.Немировская, А.П. Рыбальская	
МІКРОБІОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ АНТИСЕПТИКІВ, АНТИМІКРОБНИХ МАТЕРІАЛІВ / О.А.Назарчук, В.Г.Палій, О.О.Гончар, Д.П.Олійник, Г.Г.Назарчук, І.Г.Палій	8
The microbiological analysis of the effectiveness of modern antiseptics and antimicrobial materials / O.A.Nazarchuk, V.G.Paliy, O.O.Gonchar, D.P.Oliyunk, G.G.Nazarchuk, I.G.Paliy	
Микробиологическая оценка эффективности современных антисептиков, антимикробных материалов / А.А.Назарчук, В.Г.Палий, О.О.Гончар, Д.П.Олейник, Г.Г.Назарчук, И.Г.Палий	
ФАКТОРИ КАРДІОВАСКУЛЯРНОГО РИЗИКУ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЖІНОК З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ / Н.І.Питецька	12
Cardiovascular risk factors and metabolic parameters in hypertensive women / N.I.Pytetska	
Факторы кардиоваскулярного риска и метаболические показатели у женщин с артериальной гипертензией / Н.И.Питецкая	
РОЛЬ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ХВОРИХ ІЗ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ ЗІ ЗБЕРЕЖЕНОЮ СИСТОЛІЧНОЮ ФУНКЦІЄЮ ЛІВОГО ШЛУНОЧКА / Г.В.Болотських, Ю.С.Рудик, С.М.Пивовар	16
The role of insulin resistance in patients with heart failure with preserved systolic function of the left ventricle / A.V.Bolotskykh, Yu.S.Rudyk, S.M.Pyvovar	
Роль инсулинорезистентности пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной систолической функцией левого желудочка / А.В.Болотских, Ю.С.Рудик, С.Н.Пивовар	
ВИКОРИСТАННЯ ІМІТАЦІЙНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ОЦІНЮВАННЯ РИЗИКІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ РЕЄСТРАЦІЄЮ ДАНИХ У КЛІНІЧНОМУ ВИПРОБУВАННІ / К.О.Зупанець, К.Л.Ратушна, В.Є.Доброва, О.О.Андрєєва	23
Implementation of imitation modelling for quantitative risk assessment in clinical trial data collection / K.O.Zupanets, K.L.Ratushna, V.Ye.Dobrova, O.O.Andreeva	
Применение имитационного моделирования для количественного оценивания рисков, связанных с регистрацией данных в клиническом испытании / Е.А.Зупанец, К.Л.Ратушная, В.Е.Доброва, Е.А.Андреева	
Рецензія на довідник-навчальний посібник «Хронофармакологія наглядно (хронофармакологія в таблицях і рисунках) / С.М.Дроговоз, С.И.Рапопорт, А.В.Кононенко и др.	32

ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ПІДХОДИ ДО ВИКОРИСТАННЯ КРИСТАЛООПТИЧНОГО МЕТОДУ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН / О.В.Гармаш, Є.М.Рябокоть, Є.К.Гармаш	34
Approaches for using of the crystal optic method in the study of biological fluids / O.V.Garmash, Ye.M.Ryabokon, Ye.K.Garmash	
Подходы к использованию кристаллооптического метода исследования биологических жидкостей / О.В.Гармаш, Е.Н.Рябокоть, Е.К.Гармаш	
THE STIMULATING EFFECT OF INTERLEUKIN-33 ON PROLIFERATION OF THE PRIMARY HUMAN LUNG FIBROBLASTS / О.А.Bocharov	38
Вплив інтерлейкіну-33 на проліферацію первинних легеневих фібробластів / О.А.Бочаров	
Влияние интерлейкина-33 на пролиферацию первичных легочных фибробластов / А.А.Бочаров	
ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ФОТОСЕНСІБІЛІЗАТОРА І НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД МІКРОФЛОРИ ЗУБНОГО НАЛЬОТУ / Н.И.Філімонова, О.Г.Гейдеріх, Р.С.Назарян, К.Ю.Спіридонова	41
The study of the influence of a photosensitizer and combined effects of low-intensity laser radiation on the composition of the microflora of the dental plaque / N.I.Filimonova, O.G.Geiderikh, R.S.Nazarian, K.Yu.Spiridonova	
Изучение влияния комбинированного воздействия фотосенсибилизатора и низкоинтенсивного лазерного излучения на количественный состав микрофлоры зубного налета / Н.И.Филимонова, О.Г.Гейдерих, Р.С.Назарян, К.Ю.Спиридонова	

THE EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF ADVISABILITY OF INTRODUCING AN ADJUVANT TO THE COMPOSITION OF THE IMMUNOBIOLOGICAL SOLUTION "CANDIDOCYDE" / M.V.Rybalkin, N.I.Filimonova..... 45

Експериментальне обґрунтування доцільності введення ад'юванту до складу імунобіологічного розчину «Кандидоцид» / М.В.Рибалкін, Н.І.Філімонова
Экспериментальное обоснование целесообразности введения адъюванта в состав иммунобиологического раствора «Кандидоцид» / Н.В.Рыбалкин, Н.И.Филимонова

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LIPOPHILIC COMPLEXES FROM BEDSTRAWES AGAINST MICROORGANISMS OF ENTEROBACTERIACEAE FAMILY / O.V.Goryacha, N.V.Kashpur, T.V.Ilyina, A.M.Kovalyova..... 49

Антибактеріальна активність ліпофільних комплексів підмаренників по відношенню до мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* / О.В.Горяча, Н.В.Кашпур, Т.В.Ільїна, А.М.Ковальова
Антибактериальная активность липофильных комплексов подмаренников по отношению к микроорганизмам семейства *Enterobacteriaceae* / А.В.Горячая, Н.В.Кашпур*, Т.В.Ильина, А.М.Ковальова

ДІЯ АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ І СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ДОБОВІ БІОПЛІВКИ *S. AUREUS* ТА *E. COLI* / М.М.Попов, А.М.Коробов, С.Г.Маланчук, Н.І.Філімонова, М.М.Мішина, Ю.М.Мішин..... 52

The action of antimicrobial agents and the led radiation on daily biofilms of *S. aureus* and *E. coli* / М.М.Попов, А.М.Коробов, С.Г.Маланчук, Н.И.Филимонова, М.М.Мишина, Ю.М.Мишин
Действие противомикробных препаратов и светодиодного излучения на суточные биопленки *S. aureus* и *E. coli* / М.М.Попов, А.М.Коробов, С.Г.Маланчук, Н.И.Филимонова, М.М.Мишина, Ю.М.Мишин

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ ВОДНОГО ТА СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗОЛОТИСТОГО / О.І.Набока, С.З.Хуарі, О.Ю.Кошова, А.В.Глущенко..... 58

The study of pharmacodynamics of alcoholic and aqueous extracts from *Vupleurum aureum fisch.* / О.И.Набока, С.З.Хуари, О.Ю.Косhevaya, А.В.Глущенко
ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОДИНАМИКИ ВОДНОГО И СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТОВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ / О.И.Набока, С.З.Хуари, Е.Ю.Кошова, А.В.Глущенко

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З АНТИМІКРОБНОЮ ДІЄЮ У ШЛУНКОВИХ ЗБОРАХ / А.І.Федосов, В.С.Кисличенко, О.А.Кисличенко..... 63

Quantitative determination of biologically active substances with the antimicrobial action in gastric teas / А.И.Федосов, В.С.Кисличенко, О.А.Кисличенко
Количественное определение биологически активных веществ с противомикробным действием в желудочных сборах / А.И.Федосов, В.С.Кисличенко, А.А.Кисличенко

ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ МАТЕРІАЛІВ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В ЖУРНАЛІ "КЛІНІЧНА ФАРМАЦІЯ"..... 66

Літературні редактори О.Ю.Гурко
А.Л.Краснікова
Комп'ютерна верстка О.М.Білинська

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Національний фармацевтичний університет, редакція журналу "Клінічна фармація". Тел./факс (57) 706-30-63. E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua
Передплатні індекси: для індивідуальних передплатників — 40701; для підприємств — 40702

Свідоцтво про державну реєстрацію серія КВ №13192-2076ПР від 14.09.2007 р.

Підписано до друку 12.11.2014 р. Формат 60x84 1/8
Папір офсетний. Друк офсетний
Умовн. друк. арк. 7,91. Обліков.-вид. арк. 9,15
Тираж 100 прим.