

ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ ПОТЕНЦІЙНИХ АНТИГІПОКСАНТІВ – ПОХІДНИХ КСАНТИНУ

©К.А. Посохова, М.М. Корда, М.Р. Хара, А.А. Гудима, М.І. Марущак, А.М. Пришляк, Д.Б. Коробко, О.М. Олещук, С.І. Яворська, І.Я. Криницька, Г.С. Сатурська, А.С. Вольська, О.З. Яремчук, О.О. Шевчук, О.В. Бакалець, Л.М. Палиця, В.А. Заріцький

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

РЕЗЮМЕ. Під час скринінгових досліджень потенційних антигіпоксантів – похідних ксантину було встановлено, що найбільшою фармакологічною активністю володіють субстанції під шифрами КД 240, КД 222, КД 228, КД 234, КД 235. Даний висновок був зроблений на підставі кращого виживання тварин в умовах гострої гіпоксичної гіпоксії, що перевершує показники контрольної групи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, похідні ксантину.

Вступ. Актуальність і значимість пошуку, відбору, розробки тактики і стратегії використання антигіпоксантів пояснюються значним поширенням гіпоксії різного походження, механізми патогенезу, компенсації, адаптації і корекції якої активно обговорюються в літературі [1, 4, 5].

Незважаючи на позитивні ефекти сучасних антигіпоксантів, які найбільш яскраво проявляються у модельних експериментах, вони не завжди задовольняють потреби клінічної практики [2, 3]. Тому пошук сполук з подібною активністю і створення на їх основі нових препаратів, здатних зменшити деструктивний вплив низьких концентрацій кисню, є одним з пріоритетних напрямків медицини.

Мета дослідження – провести скринінг антигіпоксичної активності нових похідних ксантину на моделі нормобаричної гіпоксії з гіперкапінею.

Матеріал і методи дослідження. Дихання із замкненого простору – респерація – досить адекватна і проста модель гострої гіпоксії. Тварина, поглинаючи кисень із замкненого простору під час дихання, відчуває розвиток його дефіциту – гіпоксичну гіпоксію, що дозволяє оцінювати досліджуваний препарат за інтегральними показниками летальності за певний час спостереження і стійкості до дефіциту кисню (максимальна тривалість життя). Для відтворення цієї форми гіпоксії було використано 196 білих щурів лінії Вістар віком 5-6 місяців масою 150-250 г. Досліджували вплив водонерозчинних та водорозчинних сполук – похідних ксантину на тривалість життя тварин при моделюванні гіпоксії замкненого простору. Речовини синтезовано і надано для дослідження доцентом кафедри фармацевтичної хімії Д.Б. Коробком. Усі сполуки вводили тваринам внутрішньошлунково з розрахунку 50 мг/кг маси за 60 хв до початку моделю-

вання патології. Для стабілізації суспензії водонерозчинних речовин використовували твін-80 (у цьому випадку тваринам контрольної групи вводили аналогічну кількість розчину стабілізатора).

Антиокиснювальну активність плазми крові спектрофотометричним методом визначали за її здатністю гальмувати утворення продуктів перекисного окиснення в гомогенаті мозку щурів [6]. При цьому очищену від крові тканину мозку гомогенізували в 40 мМ льодяному фосфатно-соляному буфері, рН = 7,4 (1 : 4). Гомогенат центрифугували при 1000 об/хв протягом 15 хв. Супернатант зберігали при –20 °С. Перед дослідом супернатант розморожували за кімнатної температури і розбавляли трьома об'ємами фосфатно-соляного буферу. В пробірки вносили по 5 мл розведеного гомогенату, 50 мкл 5 % р-ну досліджуваних речовин, 50 мкл буферного розчину (контроль). Проби інкубували при 37 °С протягом 1 год. Відбирали по 4 мл зразка, додавали 2 мл 28 % трихлороцтової кислоти і центрифугували 15 хв при 3000 об/хв. Відбирали 4 мл супернатанту, додавали 1 мл 1 % ТБК і кип'ятили 15 хв. Проби фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 532 нм. Паралельно визначали вміст продуктів перекисного окиснення у пробах без інкубації. Загальну антиоксидну активність плазми виражали в % і визначали за формулою:

$$AOA = (1 - (E_{\text{докл.}} - E_o) / (E_{\text{контр.}} - E_{o \text{ контр.}})) \times 100,$$
 де $E_{\text{докл.}}$ і $E_{\text{контр.}}$ – екстинкції інкубованих дослідної і контрольної проб; E_o і $E_{o \text{ контр.}}$ – екстинкції дослідної і контрольної проб, які не інкубувалися.

Усіх тварин поділили на 29 груп: 1 група – контрольні тварини, яким вводили фізіологічний розчин для порівняння антигіпоксичних властивостей водорозчинних речовин, 2 – контрольні тварини, яким вводили твін-80 для порівняння антигіпоксичних властивостей водонерозчинних

речовин, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 та 29 групи – тварини, яким вводили відповідно водонерозчинні сполуки – КД 221, КД 222, КД 228, КД 240, КД 244, КД 246, КД 248, КДТz 19, КД 273, КД 302, КД 374, КД 251, КД 252, КД 379 та водорозчинні сполуки – ТД 21, ТД 22, ТД 23, КД 174, КД 192, КД 193, КД 230, КД 231, КД 232, КД 233, КД 234, КД 235, КД 236.

Критерієм оцінювання ефективності досліджуваних речовин в умовах гострої гіпоксичної гіпоксії були час настання другого агонального вдиху та час смерті тварини. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з визначенням t-критерію Стьюдента за допомогою програми Excel.

Результати й обговорення. Спостереження проводили до появи другого агонального вдиху, оцінюючи поведінку та загальний стан тварин (табл. 1).

Тварини, яким ввели фізіологічний розчин, в умовах гіпоксії були неспокійними, активно шукали вихід. На 9-10-й хв заспокоювались, 12-15 хв мились. З 22-24 хв виникали ознаки занепокоєння, судомні скорочення та посмикування.

У тварин другої групи на 7-15-й хв від початку моделювання гіпоксії замкненого простору з'явилися ознаки занепокоєння. На 22-25-й хв вони почали активно шукати вихід, ознаки занепокоєння в цей час посилювались. На 28-31-й хв спостереження рухова активність щурів суттєво зменшилася, виникали судомні скорочення та посмикування.

Введення речовини КД 240 сприяло тому, що на 12-23-й хв гіпоксії тварини ставали збудженими, вони активно шукали вихід. З 26-ї по 31-шу хв спостерігалось пригнічення рухової активності. Судомні скорочення та посмикування виникали на 37-59-й хв.

У тварин, яким вводили КД 234, з 10-ї хв спостерігалось поверхнєве дихання, миття мордочки, з 21 хв дихання стало глибшим та рідшим, виникали ознаки занепокоєння, порушення координації, судоми.

У групі, де вводили КД 235, тварини характеризувались дуже спокійною поведінкою, з 12-13 хв періодично виявляли ознаки занепоєння, активність була мінімальною, пошукові рухи з інтервалом близько 10 хв.

Тварини, яким вводили КД 222, починали змінювати пози, мили мордочки з 6-7 хв, активно шукали вихід з 16 хв, пригнічення рухової активності в них спостерігалось з 20-ї хв, судомні скорочення виникли на 40-54 хв.

Для гіпоксії, яка розвивалася на тлі речовини КД 228, характерним було занепокоєння тва-

рин, що виникало на 14-й хв. В цей час тварини активно шукали вихід. Пригнічення рухової активності виникало з 22-ї хв, а судомні скорочення та посмикування – на 43-53-й хв.

Проведені експериментальні дослідження вказують на те, що синтезована нова водонерозчинна субстанція КД-222 здатна збільшувати стійкість організму до гіпоксії і гіперкапнії у тварин при одноразовому введенні в дозі 50 мг/кг і перевищує на 44,8 % контрольну групу. Практично такі ж результати отримано при експериментальному дослідженні КД-228: $P < 0,001$ порівняно з показником 1 групи (табл. 1). Достовірне збільшення часу появи другого агонального вдиху, яке становило 34,1 %, було також характерним для тварин, яким до моделювання гіпоксії замкненого простору вводили речовину КД 240.

Достовірне збільшення часу появи другого агонального вдиху відносно тварин контрольної групи, на 51 % та 61 %, відповідно, було характерним також для тварин 27 і 28 груп, яким до моделювання гіпоксії замкненого простору вводили водорозчинні речовини КД 234 і КД 235.

Важливим моментом, на який варто звернути увагу, є також те, що під впливом водонерозчинних речовин КД 273, КД 302 та водорозчинних сполук КД 232, КД 233 час настання другого агонального вдиху достовірно зменшувався, порівняно з контрольною групою, що свідчить про негативний вплив цих сполук на резистентність тварин до гіпоксичної гіпоксії.

Зважаючи на те, що на рівень резистентності тварин до гіпоксії може суттєво вплинути антиоксидна властивість їх тканин, було проведено дослідження даного параметра в умовах *in vitro*. Проте при визначенні антиокиснювальної активності плазми крові достовірних результатів щодо ймовірного антиоксидного ефекту речовин, які *in vivo* проявляли антигіпоксичні властивості, не отримано. Лише сполуки ТД-22, КД-235 виявляли антиоксидну активність – 60 % та 20 % відповідно.

Висновки. 1. Серед вивчених 27 нових сполук – похідних ксантину водонерозчинні речовини КД 240, КД-222, КД-228 та водорозчинні сполуки КД 234, КД 235 при одноразовому введенні тваринам у дозі 50 мг/кг за 60 хв перед моделюванням гострої гіпоксичної гіпоксії збільшують стійкість до гіпоксії, що проявляється зростанням часу появи другого агонального вдиху в середньому на 35-60 %.

2. Нові похідні ксантину – сполуки КД 273, КД 302 (водонерозчинні) та КД 232, КД 233 (водорозчинні) зменшують стійкість експериментальних тварин до гострої гіпоксичної гіпоксії.

Таблиця 1. Тривалість життя тварин в умовах гіпоксії замкненого простору, с ($M \pm m$)

Водорозчинні речовини		Водонерозчинні речовини	
Група тварин	Показник	Група тварин	Показник
1 група (контроль), n=18	2047,29±80,32	2 група (контроль), n=12	2110,0±151,95
17 група ТД 21, n=6	2440 ±67,171 p>0,05	3 група КД 221, n=6	2445±257 p>0,5
18 група ТД 22, n=6	2190 ±161,66 p>0,05	4 група КД 222, n=5	2940,0±152,9 p<0,001
19 група ТД 23, n=6	2640 ±207,152 p>0,05	5 група КД 228, n=5	2928,0±120,6 p<0,001
20 група КД 174, n=6	2380 ±102,761 p>0,05	6 група КД 240, n=5	3139±228 p<0,05
21 група КД 192, n=6	2480 ±213,091 p>0,05	7 група КД 244, n=6	2771±125 p>0,25
22 група КД 193, n=6	2510 ±150,279 p>0,05	8 група КД 246, n=6	3170±372 p>0,1
23 група КД 230, n=6	2015,17±141,60 p>0,05	9 група КД 248, n=6	2530±178 p>0,5
24 група КД 231, n=6	1636,33±104,66 p>0,05	10 група КДТz 19, n=6	2000,0±29,7 p>0,05
25 група КД 232, n=6	1710,0±45,8 p<0,01	11 група КД 273, n=6	1610,0±24,1 p<0,001
26 група КД 233, n=6	1730,0±44,9 p<0,01	12 група КД 302, n=6	1612,3±305,2 p<0,001
27 група КД 234, n=6	2751,33±221,20 p<0,01	13 група КД 374, n=6	2150,0±36,1 p>0,5
28 група КД 235, n=6	2936,50±287,10 p<0,01	14 група КД 251, n=6	1960,0±40,0 p>0,5
29 група КД 236, n=6	2140,00±72,38 p>0,05	15 група КД 252, n=6	2010,0±30,0 p>0,5
		16 група КД 379, n=6	1910,0±36,1 p>0,5

Примітка. p – показник достовірності, у порівнянні з контрольною групою.

3. При визначенні антиокиснювальної активності плазми крові *in vitro* сполуки ТД-22 та КД-235 проявляли незначну антиоксидну активність.

Перспективи подальших досліджень.

Результати даного скринінгового дослідження є основою для подальшого поглибленого доклі-

нічного вивчення фармакологічних властивостей нових сполук – похідних ксантину на моделях гіпоксичних станів різної етіології, у порівнянні з найбільш ефективними лікарськими засобами з групи антигіпоксантів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бизенкова М.Н. Метаболические эффекты антиоксидантов в условиях острой гипоксической гипоксии // *Фундаментальные исследования*. – 2006. – № 1. – С. 17-22.

2. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Борликова Г.Г. Ноотропные и анксиолитические свойства разных доз

пирацетама // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2000. – № 2. – С. 9-11.

3. Марышева В.В., Шабанов П.Д. Исследование антигипоксических свойств в гомологическом ряду 2-аминотиазола // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2005. – № 6. – С. 67–70.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики

4. Чеснокова Н.П. Источники образования свободных радикалов и их значение в биологических системах в условиях нормы // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 6. – С. 28-34.

5. Messomier L., Geysant A., Hintzy F., Lacour J. Effects of training in normoxia and normobaric hypoxia on time to exhaustion at the maximum rate of oxygen uptake //

Eur. J. Appl. Physiol. — 2004. — Vol. 92, N 4—5, August. — P. 470—476.

6. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J.M. Gutteridge, R.J. Sharp, I.L. Dormandy // Clin. Sci. and Mol. Med. - 1974. - Vol. 47. - P. 215 - 222.

PHARMACOLOGICAL SCREENING OF POTENTIAL ANTIHYPOXIC AGENTS OF XANTHINE DERIVATIVES

©**K.A. Posokhova, M.M. Korda, M.R. Khara, A.A. Gudyma, M.I. Marushchak, A.M. Pryshlyak, D.B. Korobko, O.M. Oleshchuk, S.I. Yavorska, I.Ya. Krynytska, G.S. Saturska, A.S. Volska, O.Z. Yaremtchuk, O.O. Shevchuk, O.V. Bakalets, L.M. Palytsya, V.A. Zaritzky.**

Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

SUMMARY. During screening tests of potential antihypoxants of xanthine derivatives it was determined that the most pharmacologically active substances are under the codes KD 240, KD 222, KD 228, KD 234, KD 235. This conclusion is based on the survival rate of the animals after acute hypoxic hypoxia exposure, more than control group data.

KEY WORDS: hypoxic hypoxia, xanthine derivatives

УДК 611.664+618. 173:576.2+616-018

КОМПЛЕКСНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕНДОМЕТРІЯ У ЖІНОК З ГІПЕРПЛАСТИЧНИМИ ПРОЦЕСАМИ В ПЕРИМЕНОПАУЗІ

©**В.О. Потапов, І.С. Шпонька, О.І. Ханіна**

Дніпропетровська державна медична академія

РЕЗЮМЕ. Обстежували жінок віком від 45 до 52 років з гіперпластичними процесами в ендометрії. Використовували антитіла до рецепторів естрогену (ER), прогестерону (PR), маркер васкуляризації тканини (VEGF), маркери проліферації (Ki67) й апоптозу (p53). Визначений оптимальний алгоритм обстежування жінок з гіперпластичними процесами, що включає визначення кількісних і якісних ехографічних, доплерометричних й імуноморфологічних характеристик. Надійними доморфологічними критеріями гіперплазії є: збільшення М-ехо > 7 мм, збільшення ЕМС > 0,33, збільшення ПЗР М-ехо > 16 мм, зміна ІР судин матки у бік збільшення при ПГБА і КГБА і в бік зменшення при ПГЗА та КГЗА. Позитивна реакція на VEGF і p53 свідчить про розвиток КГЗА і є несприятливим прогностичним критерієм.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіперплазія ендометрія, імуногістохімія, пременопауза, алгоритм обстеження.

Вступ. Відомо, що гіперпластичні процеси ендометрія (ГПЕ) є проліферативними гормонообумовленими захворюваннями. При виникненні їх рецидивів або при їх довготривалому перебігу ГПЕ можуть слугувати морфологічним субстратом, на тлі якого можлива онкологічна трансформація. Саме тому своєчасна діагностика стану ендометрія, визначення канцерогенно-

го потенціалу гіперплазованої тканини є критеріями успішності використання адекватних терапевтичних заходів і мають важливе значення в прогнозуванні та оцінці якості життя пацієнтки. З літератури відомо, що ГПЕ без атипії розвиваються на тлі абсолютної чи відносної гіперестрогенії, а атипична гіперплазія є результатом зростання проліферативного потенціалу ендометрія