УДК 615.89; 616.24

СКРИНІНГОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ ГОМЕОПАТИЧНИХ ГРАНУЛ НА ОСНОВІ СУРФАКТАНТУ ТВАРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Л.В.Яковлєва, С.А.Гращенкова, А.В.Шереметьєва

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: гомеопатичні гранули; сурфактант тваринного походження; антиексудативна активність

THE SCREENING RESEARCH OF THE ANTI-EXUDATIVE ACTION OF HOMEOPATHIC GRANULES BASED ON THE SURFACTANT OF THE ANIMAL ORIGIN

L.V.Yakovleva, S.A.Grashchenkova, A.V.Sheremeteva

National University of Pharmacy

Key words: homeopathic granules; surfactant of the animal origin; anti-exudative activity

When studying the acute pulmonary edema in rats induced by intraperitoneal administration of 6% ammonium chloride solution in the dose of 400 mg/kg the anti-exudative action of homeopathic granules with different dilutions of the surfactant of the animal origin (Sample-1 (dilution of the surfactant is C3) > Sample-2 (dilution of the surfactant is C6) > Sample-3 (dilution of the surfactant is C30)) has been revealed. It has been also found that the therapeutic effect of homeopathic granules resulted in 100% survival in the conventional animal group treated with Sample-3 and prevented the death of animals (75%) in Sample-1 and Sample-2 groups. According to the results of the morphological studies the use of homeopathic granules of Sample-1 and Sample-3 led to reliable decrease of the alveolar edema and venous hyperemia in the control group. The samples of homeopathic granules exceed the activity of the reference medicine indometacin (2 mg/kg) by all parameters, but Sample-3 containing the surfactant of the animal origin in C30 dilution is the most promising.

Набряк легенів є однією з найбільш актуальних проблем сучасної медичної науки. Про це свідчить той факт, що навіть у кращих клініках, оснащених сучасною апаратурою, смертність при розвитку набряку легенів дуже висока і становить в середньому 60% [7]. Набряк легенів може розвиватися при різноманітних за своєю природою захворюваннях. Виділяють декілька клінічних форм набряку легенів: кардіогенний і некардіогенний набряк легенів, гостре пошкодження легенів, гострий респіраторний дистрес-синдром дорослих, неврогенний набряк легенів. Гострий набряк легенів посідає особливе місце за швидкістю свого розвитку, тяжкістю порушень дихальної функції і труднощами лікування. Цим можна пояснити великий інтерес експериментаторів до вивчення механізмів розвитку цього стану і постійний пошук нових, патогенетично обґрунтованих методів лікування [9-11, 13].

Метою наших досліджень стало вивчення фармакологічної дії нових гомеопатичних гранул, який дозволить виявити антиексудативну активність представлених зразків на моделі експериментального набряку легенів у щурів.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження стали гомеопатичні гранули (ГГ), до складу яких увійшов сурфактант тваринного походження в різних розведеннях, умовно позначені тест-зразок-1 (ТЗ-1), що містить розведення С3, тест-зразок-2 (ТЗ-2), що містить розведення С6, тест-зразок-3 (ТЗ-3), що містить розведення С30, які розроблені співробітниками кафедри АТЛ НФаУ під керівництвом Тихонової С.О.

Антиексудативну активність (АА) об'єктів ТЗ-1, ТЗ-2, ТЗ-3 вивчали на моделі порушення проникності гематоплеврального бар'єру у щурів, викликаного внутрішньоочеревинним (вн/ч) введенням 6% розчину хлористого амонію у дозі 400 мг/кг маси тварини [1]. Провідним компонентом токсичної дії хлористого амонію є порушення вентиляційних функцій легенів і патологічне збільшення об'єму міжсудинної рідини в легенях, що призводить до розвитку альвеолярного набряку легенів та збільшення масового коефіцієнта легенів (МКЛ).

З метою усунення впливу коливань гормонального фону дослідження проводили на білих безпородних щурах самцях масою 170-190 г. Тварини були розподілені на 6 груп по 8 у кожній. Перша група – інтактний контроль (іК). Друга група – тварини позитивного контролю (ПК), які піддавалися тільки дії токсиканта. Тварини третьої, четвертої та п'ятої груп отримували ГГ сублінгвально ТЗ-1, ТЗ-2, ТЗ-3 відповідно. Тваринам шостої групи вводили внутрішньошлунково засіб порівняння – таблетки індометацину у дозі 2 мг/кг (виробник SOPHARMA, Болгарія) [8]. Гомеопатичні гранули ТЗ-1, ТЗ-2, ТЗ-3 вводили по 1 крупці три рази: за 1 годи-

Л.В.Яковлєва – доктор фармац. наук, професор, завідувач кафедри фармакоекономіки, завідувач Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Таблиця 1

Антиексудативна активність досліджуваних тест-зразків на моделі набряку легенів

Експериментальні групи	n	МКЛ, $\bar{X}\pm S_{\bar{X}}$	Антиексудативна активність, %	Загибель/загальна кількість тварин у групі[#]
Інтактний контроль	8	0,65±0,03	-	0/8
Позитивний контроль	8	1,20±0,08 [1]	-	6/8 [1]
ТЗ-1	8	0,69±0,02 [2]	93	2/8
ТЗ-2	8	0,71±0,05 [2]	89	2/8
ТЗ-3	8	0,80±0,06 [2]	73	0/8 [2]
Індометацин, 2 мг/кг	8	0,85±0,09 [2]	64	4/8 [1]

Примітки:
1) Метод Крускала-Уоліса та критерій Манна-Уітні, точний метод Фішера ([#]);
2) [1] – відмінності достовірні щодо значень групи інтактного контролю, p<0,05;
3) [2] – відмінності достовірні щодо значень позитивного контролю, p<0,05.

ну до моделювання набряку, одночасно з ін'єкцією хлористим амонієм та через 1 годину після неї. Препарат порівняння вводили одноразово за 1 годину до моделювання набряку.

Ефективність лікарських засобів оцінювали за виживанням тварин, масовим коефіцієнтом набряку легенів, який розраховували за формулою:

$$МК = \frac{m}{M} \times 100,$$

де: m – маса органа, г;
M – маса тварини, г.

Антиексудативну активність розраховували за формулою:

$$АА = 100\% - \frac{100\% \times (МКЛ_{д} - МКЛ_{і})}{МКЛ_{пк} - МКЛ_{і}},$$

де: $МКЛ_{і}$ – масовий коефіцієнт легенів тварин групи ІК;
$МКЛ_{пк}$ – масовий коефіцієнт легенів тварин групи ПК;
$МКЛ_{д}$ – масовий коефіцієнт легенів групи тварин, які отримували досліджуваний об'єкт (ТЗ).

Досліджена морфоструктура легенів щурів усіх дослідних груп. Через 2 години після введення хлористого амонію тварин, які вижили, знеживлювали методом дислокації шийних хребців та проводили розтин і огляд грудної порожнини. Весь тканинний матеріал фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [4]. Для зручності порівняння стану легеневої паренхіми тварин різних експериментальних груп на мікропрепаратах визначали умовний ступінь виразності деяких морфологічних ознак патологічних змін: альвеолярний набряк, венозний застій, альвеолярний рисунок. За основу прийняли напівкількісну візуальну оцінку потужності забарвлення мікроструктур при гістохімічних реакціях за методом Соколовського [6] за 4-бальною системою: ознака відсутня – 0 балів; слабко виражена – 1 бал; помірно виражена – 2 бали; виражена – 3 бали.

Для отримання статистичних висновків при порівнянні статистичних вибірок та математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм «Statistica 6.0» [3, 5].

Утримання тварин та всі маніпуляції з ними здійснювали згідно з санітарно-гігієнічними нормами та принципами Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин (Strasburg, 1986) [9].

Результати та їх обговорення

Після внутрішньошлункового введення токсиканта у всіх тварин з групи ПК розвився набряк легенів. Спочатку спостерігали збудженість, неспокій, поступове порушення дихання, розвивалася гіпоксія, ацидоз. Тварини переставали рухатися, агонію тварин супроводжували корчі. Загибель тварин наступала з 17 до 62 хвилини (середнє значення тривалості життя 45 хвилин). Асфіксію зафіксовано у всіх тварин, загибель відмічена у 6 з 8 тварин. При патологічному огляді тварин, які загинули, спостерігали збільшені легені червоно-бурого кольору, у місці розрізу відділяється пінистий рожевий ексудат. У однієї тварини спостерігали диспное та «раптову» загибель на 17-ій хвилині після ін'єкції токсиканта. Огляд тварин, які вижили через 2 години після введення хлористого амонію, яких піддавали знеживленню методом дислокації шийних хребців, показав, що легені тварин були наповнені ексудатом. МКЛ тварин групи ПК становив 1,20, що у 1,8 рази перевищує значення МКЛ групи ІК (табл. 1).

На тлі введення ТЗ-1 та ТЗ-2 лише у 2-х тварин з 8 у кожній групі стрімко розвивалися судоми, які закінчилися летально через 9, 14 хвилин та 30, 36 хвилин відповідно. В інших тварин набряк легенів відбувався зі значно меншою виразністю, ніж у тварин ПК. МКЛ у цих групах (0,69 та 0,71) не мав статистичних відмінностей стосовно групи ІК, що свідчить про спроможність досліджуваних тест-зраз-

Таблиця 2

Напівкількісна оцінка стану легеневої тканини щурів, бали ($\bar{X}(X_{min} \div X_{max})$)

Експериментальні групи	Морфологічні ознаки		
	альвеолярний набряк	венозний застій	альвеолярний рисунок
Інтактний контроль	0 (0÷0)	0 (0÷0)	3 (3÷3)
Позитивний контроль	2,25[1] (0÷3)	1,75[1] (1÷2)	0,87[1] (0÷3)
ТЗ-1	0,13[2/3] (0÷1)	0,38[2/3] (0÷1)	2,88[2/3] (2÷3)
ТЗ-2	1,63[1/4] (0÷3)	0,88[1/2] (0÷2)	2,25[1/2/4] (2÷3)
ТЗ-3	0,13[2/3/5] (0÷1)	0,75[1/2/3] (0÷1)	2,25[1/2/4] (1÷3)
Індометацин, 2 мг/кг	1,63[1/5] (1÷3)	1,63[1/4] (1÷3)	1,87[1] (0÷3)

Примітки:
1) Метод Крускала-Уоліса та критерій Манна-Уітні;
2) [1] – відмінності достовірні щодо значень групи інтактного контролю, p<0,05;
3) [2] – відмінності достовірні щодо значень групи позитивного контролю, p<0,05;
4) [3] – відмінності достовірні щодо значень групи препарату порівняння, p<0,05;
5) [4] – відмінності достовірні щодо значень ТЗ-1, p<0,05;
6) [5] – відмінності достовірні щодо значень ТЗ-2, p<0,05.

ків попереджати набряк легенів. Антиексудативна активність гомеопатичних гранул ТЗ-1 та ТЗ-2 за пригніченням розвитку набряку легенів становила 93% та 89% відповідно.

Як свідчать дані результатів дослідження, ТЗ-3 сприяв не тільки повному виживанню тварин (табл. 1), але й повністю нівелював клінічні ознаки інтоксикації. Набряк легенів відбувався в слабкій формі. Значення МКЛ (0,80) статистично не відрізнялось від значень групи ІК. Антиексудативна активність ТЗ-3 становила 73%.

У групі тварин, які отримували препарат порівняння, після введення хлористого амонію 4 тварини з 8 загинули (середня тривалість життя – 45 хвилин). Клінічні прояви інтоксикації відбувалися за меншими ознаками, ніж у групі ПК. Легені загиблих тварин були збільшені та кровонаповнені. Огляд тварин, які вижили, також вказував на набрякові процеси в легенях (наявність ексудату). Виразність набрякових процесів статистично відрізнялась від значень групи ПК – МКЛ становив 0,85, антиексудативна активність – 64%.

Отримані результати вказують на те, що за активністю гомеопатичні засоби ТЗ-1, ТЗ-2 та ТЗ-3 переважають препарат порівняння індометацин. Позитивний вплив цих зразків на перебіг експериментального набряку легенів можна пояснити їх здатністю нормалізувати поверхневий натяг сурфактанту легеневих альвеол, у результаті чого зменшується виразність набряку та загибель тварин.

Згідно з поставленою задачею була проведена напівкількісна оцінка деяких морфологічних ознак, що характеризують патологічний процес у легеневій тканині щурів різних експериментальних груп. Результати наведені у табл. 2, з якої видно, що гомеопатичні гранули ТЗ-1 і ТЗ-3 рівнозначно позитивно впливали на виразність альвеолярного набряку, знижуючи його ознаки порівняно з групою ПК, а також порівняно з індометацином та ТЗ-2. Альвеолярний набряк у групах тварин, що отримували ТЗ-2 та препарат порівняння індометацин хоча і зорово знижувався у частини щурів, але статистично не відрізнявся від групи ПК. За позитивним впливом на виразність венозного застою перевагу мали ТЗ-1 та ТЗ-3, ТЗ-2 вірогідно не покращував цей показник стосовно групи ПК. ТЗ-1 мав перевагу і відносно препарату порівняння індометацину. Альвеолярний рисунок добре зберігся після введення гомеопатичних гранул усіх ТЗ. Препарат порівняння індометацин за цим показником статистично не відрізнявся від групи ПК.

ВИСНОВКИ

1. Триразове сублінгвальне застосування гомеопатичних гранул у щурів приводило до 100% виживання у групі лабораторних тварин, які отримували ТЗ-3, та попереджало загибель (75%) у групах ТЗ-1 та ТЗ-2.

2. Введення гомеопатичних гранул (ТЗ-1, ТЗ-2, ТЗ-3) приводило до зниження масових коефіцієнтів легенів та виявлення виразної антиексудативної активності.

3. Гомеопатичні гранули (ТЗ-1, ТЗ-2, ТЗ-3) за всіма показниками перевищували активність індометацину у дозі 2 мг/кг, але найбільш перспективним для подальших досліджень за сумою характеристик є ТЗ-3.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Доклінічне дослідження лікарських засобів: Метод. рекомend. / За ред. чл.-кор. НАМН України, акад. О.В.Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – С. 292-306.*

2. *Западнюк М.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. Использование в эксперименте. – К.: Высш. шк., 1983. – 382 с.*
3. *Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2001. – 320 с.*
4. *Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.*
5. *Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.*
6. *Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии. – Л.: Медицина, 1971. – 176 с.*
7. *Чучалин А.Г., Бобков Е.В. Основы клинической діагностики: Руководство для врачей. – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 583 с.*
8. *Яковлева Л.В. Изыскание и изучение новых противовоспалительных средств производных дикарбоновых кислот: Дис. ... д-ра фармац. наук. – М., 1992. – 442 с.*
9. *American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1995. – Vol. 152 (5). – P. 120-177.*
10. *Anto J.M., Vermlire P., Sunyer J. // Eur. Respir. Mon. – 2000. – №15. – P. 1-22.*
11. *Barnes P.J., Chowdhury B., Kharitonov S.A. // Am. Respir. Crit. Care Med. – 2006. – Vol. 174, №1. – P. 6-14.*
12. *Europen convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasburg, 1986. – №123. – P. 52.*
13. *Monso E. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1995. – Vol. 152, №4, Pt 1. – P. 1316-1320.*

СКРИНІНГОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ ГОМЕОПАТИЧНИХ ГРАНУЛ НА ОСНОВІ СУРФАКТАНТУ ТВАРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Л.В.Яковлєва, С.А.Гращенкова, А.В.Шереметьєва

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: гомеопатичні гранули; сурфактант тваринного походження; антиексудативна активність

При дослідженні гострого набряку легеневу щурів, викликаного внутрішньоочеревинним введенням 6%-ого розчину хлористого амонію у дозі 400 мг/кг, виявлено антиексудативну дію гомеопатичних гранул з різним розведенням сурфактанту тваринного походження (Тест-зразок-1 (розведення сурфактанту С3) > Тест-зразок-2 (розведення сурфактанту С6) > Тест-зразок-3 (розведення сурфактанту С30)). Виявлено також, що лікувальна дія гомеопатичних гранул приводила до 100% виживання у групі лабораторних тварин, які отримували ТЗ-3, та попереджала загибель у 75% тварин у групах Тест-зразок-1 та Тест-зразок-2. За результатами морфологічних досліджень застосування гомеопатичних гранул Тест-зразок-1 та Тест-зразок-3 приводило до достовірного зниження альвеолярного набряку та венозного застою у групі контролю. Зразки гомеопатичних гранул за всіма показниками перевищували активність препарату-порівняння індометацину у дозі 2 мг/кг, але найбільш перспективним для подальших досліджень за сумою характеристик є Тест-зразок-3, тобто гомеопатичні гранули, до складу яких входить сурфактант тваринного походження у розведенні С30.

СКРИНИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИЭКССУДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ГРАНУЛ НА ОСНОВЕ СУРФАКТАНТА ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Л.В.Яковлева, С.А.Гращенкова, А.В.Шереметьева

Национальный фармацевтический университет

Ключевые слова: гомеопатические гранулы; сурфактант животного происхождения; антиэкссудативная активность

При исследовании острого отека легких у крыс, вызванного внутрибрюшинным введением 6%-ого раствора хлористого аммония в дозе 400 мг/кг, обнаружено антиэкссудативное действие гомеопатических гранул с разным разведением сурфактанта животного происхождения (Тест-образец-1 (разведение сурфактанта С3) > Тест-образец-2 (разведение сурфактанта С6) > Тест-образец-3 (разведение сурфактанта С30)). Обнаружено также, что лечебное действие гомеопатических гранул приводило к 100% выживанию в группе лабораторных животных, которые получали Тест-образец-3, и предупреждало гибель у 75% животных в группах Тест-образец-1 и Тест-образец-2. По результатам морфологических исследований применение гомеопатических гранул Тест-образец-1 и Тест-образец-3 приводило к достоверному снижению альвеолярного отека и венозного застоя в группе контроля. Образцы гомеопатических гранул по всем показателям превышали активность препарата-сравнения индометацина в дозе 2 мг/кг, но наиболее перспективным для дальнейших исследований по сумме характеристик является Тест-образец-3, то есть гомеопатические гранулы, в состав которых входит сурфактант животного происхождения в разведении С30.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. **Т**ел. (57) 706-23-12.
E-mail: cndlnfau@mail.ru.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 26.12.2012 р.