

Cole, R. Brosch, J. Parkhill et al. // Nature. — 1998. — Vol. 393. — P. 537-544.

11. Frothingham R., Meeker-O'Connell W. A. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem repeats // Microbiology. — 1998. — Vol. 144. — P. 1189-1196.

12. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units / P. Supply, S. Lesjean, E. Savine et al. // J. Clin. Microbiol. — 2001. — Vol. 39. — P. 3563-3571.

13. High resolution, on-line identification of strains from the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on tandem repeat typing / P. Le Fleche, M. Fabre, F. Denoeud et al. // BMC Microbiol. — 2002. — Vol. 2. — P. 37-48.

14. Development and evaluation of an expanded set of VNTR-MIRU loci for the differentiation of tuberculosis in a population with a high-incidence of Beijing-family strains / V. Nikolaevskyy, K. Gopaul, T. Brown et al.

// Abstr. 15th European Clinical Microbiology Congress. — Copenhagen, 2005. — P. 314.

15. Analysis of the allelic diversity of the Mycobacteria interspersed repetitive units in *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing family: practical implications and evolutionary considerations / I. Mokrousov, O. Narvskaya, E. Limeschenko et al. // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42. — P. 2438-2444.

16. Наказ МОЗ України № 45 від 06.02.2002 «Про затвердження Інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції» (складена під керівництвом Ю. І. Феценко, О. А. Журило, М. Т. Клименко та ін.) // Зб. нормативно-директивних документів з охорони здоров'я. — 2002. — № 2. — С. 63-111.

17. Hunter P., Gaston M. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity // J. Clin. Microbiol. — 1988. — Vol. 26. — P. 2465-2466.

18. Genotypic and phenotypic heterogeneity among *Mycobacterium tuberculosis* isolates from pulmonary

tuberculosis patients / I. C. Shamputa, L. Rigouts, L. A. Eyongeta et al. // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42. — P. 5528-5536.

19. MIRU-VNTR-генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis* в Восточной Сибири: генотипы Beijing и Kilimanjaro // Молекуляр. генет., микробиол. и вирусология. — 2004. — № 4. — С.33-38.

20. Николаевский В. В., Дробневски Ф. А., Бажора Ю. И. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов микобактерий, выделенных в Южном регионе Украины // Цитология и генетика. — 2004. — № 4. — С. 29-33.

21. Variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy numbers of IS6110 by using MIRU / L. Cowan, L. Mosher, L. Diem et al. // J. Clin. Microbiol. — 2002. — Vol. 40. — P. 1592-1602.

22. Типирование *Mycobacterium tuberculosis* в Самарском регионе с помощью VNTR / Е. Желткова, М. Радди, Н. Маломанова и др. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунологии. — 2004. — № 1. — С.35-37.

УДК 615.32-092.9

О. П. Сотникова, Г. С. Фесюнова, Т. Д. Лотош

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИКОАГУЛЯНТНИХ І ФІБРИНОЛІТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ БУРКУНУ ЛІКАРСЬКОГО

Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України, Одеса

У лабораторії фармакології і тканинної терапії Інституту ім. В. П. Філатова розроблена технологія одержання екстракту з трави буркуну лікарського (Патент № 3544, 15.11.2004. Бюл. № 11). Препарат містить комплекс біологічно активних речовин (амінокислоти, пептиди, полісахариди, оксикумарини, біофлавоноїди з Р-вітамінною залежністю тощо). Особливий інтерес мають дані, що свідчать про високий рівень вмісту в препараті суми кумаринів. Встановлено високий рівень

біологічної активності препарату на дріжджовому і парабіотичному тестах. Виявлено антитоксичну дію на стрихніновому тесті. Екстракт буркуну має антигіпоксичні властивості при моделюванні у щурів гістотоксичної гіпоксії. У досліджах *in vitro* встановлено високу антиагрегаційну активність екстракту буркуну, що практично в 3 рази вище, ніж у препараті ФІБС [4].

Метою дослідження є вивчення впливу екстракту буркуну (ЕБ) у різних дозах на ге-

мостаз експериментальних тварин при курсовому введенні.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження були проведені на 30 кролях породи шиншила, масою 3,0–4,7 кг, розподілених на 6 груп: 3 контрольних (по 3 кролі) і 3 піддослідних (по 7 кролів). Показники гемостазу у тварин вивчали до початку досліду (вихідний рівень), на 7, 14, 21-й день уведення ЕБ,



через 1 і 2 тиж після закінчення курсу. Досліджуваний препарат вводився тваринам підшкірно в таких дозах: 0,3, 1,0 і 3,0 мл/кг для кожної піддослідної групи відповідно. Контрольним тваринам вводився фізіологічний розчин в аналогічних дозах.

Визначали такі показники коагулограми: тромбіновий час (ТЧ), протромбіновий час (ПЧ), активований парціальний тромбoplastиновий час (АПТЧ) і вміст фібриногену оптичним методом на гемокоагулометрі турбідиметричному фірми «Солар» (Мінськ) із використанням реактивів фірми «НПО Ренам» (Москва) згідно зі стандартними методиками [2] з урахуванням методичних рекомендацій до приладу [3].

Хагеман-залежний фібриноліз (ХЗФ) визначали за Kowalski, Корес [7], час лізису еуглобулінового згустка та показника фібринолітичної активності (ПФА) згідно з методичними рекомендаціями [1; 7].

З метою стандартизації результатів ПЧ при використанні тромбoplastинів різної активності і відповідно до рекомендацій ВООЗ отримані дані представлені у вигляді міжнародного нормалізованого індексу (МНІ). Визначені в процесі виробництва калібровані константи, так звані міжнародний індекс чутливості (МІЧ — зазначений на флаконі),

дають можливість порівнювати результати ПЧ незалежно від використовуюваного тромбoplastину [5].

Враховуючи, що в усіх серіях експерименту спостерігалось зменшення вмісту фібриногену, що, безсумнівно, впливало на зменшення часу лізису еуглобулінового згустка, для усунення цього впливу застосовувався показник фібринолітичної активності:

ПФА = концентрація фібриногену (г/л) \times 100 / час лізису еуглобулінів (хв) [1].

Всі отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Протягом усього експерименту у кролів контрольної групи не виявлено статистично значущих змін коагулограми, що дозволило надалі порівнювати отримані показники піддослідних груп з їх вихідними даними.

У табл. 1 наведені дані коагулограми кролів під впливом курсового введення препарату ЕБ дозою 0,3 мл/кг.

Отримані результати свідчать про те, що препарат має виражені гіпокоагулянтні властивості на всіх етапах згортання крові.

Так, через один тиждень від початку введення ЕБ відбу-

вається вірогідне подовження ТЧ на 30 % ($P < 0,05$), а через два і три тижні на 77 % ($P < 0,001$; $P < 0,02$). При дослідженні ПЧ (зовнішній механізм згортання) відзначалась спрямованість змін, що характеризувалась таким: наприкінці першого тижня введення ЕБ подовження ПЧ становило 37 % ($P < 0,02$). Через два тижні ПЧ збільшився на 67 % ($P < 0,02$). Через три тижні подовження цього показника становило 74 % ($P < 0,02$). За тестом АПТЧ (внутрішній механізм згортання) спостерігалось вірогідне збільшення цього показника протягом курсового введення на 33, 53, 68 % відповідно.

Вміст фібриногену після двох тижнів введення знизився на 41 % ($P < 0,05$) та зберігався на цьому рівні протягом трьох тижнів. Через тиждень після закінчення курсового введення вірогідних відмінностей показників гемостазу не спостерігалось (рис. 1).

При дослідженні показників фібринолізу через два тижні спостерігалось зменшення ХЗФ на 21,3 % ($P < 0,05$), ПФА збільшився з 1,05 до 1,29. Обидва показники зберігалися на тому ж рівні і через тиждень після дії препарату. У табл. 2 наведені дані коагулограми кролів під впливом курсового введення ЕБ дозою 1,0 мл/кг.

У цій серії експерименту спостерігалися зміни дослі-

Таблиця 1

Вплив екстракту буркуну на плазмово-коагуляційні показники крові при 21-денному введенні кролям дозою 0,3 мл/кг

Досліджувані показники	Вихідний рівень, n=7	1-й тиждень введення	2-й тиждень введення	3-й тиждень введення	Через тиждень після введення
ТЧ	13,8 \pm 1,1	17,9 \pm 0,8*	24,5 \pm 1,3***	24,4 \pm 1,0**	15,7 \pm 0,9
ПЧ	12,6 \pm 0,9	17,1 \pm 1,4**	20,9 \pm 1,8**	21,7 \pm 1,4**	13,9 \pm 0,9
МНІ	1,1	1,4	1,8	1,8	1,2
АПТЧ	25,7 \pm 1,6	34,4 \pm 2,0*	39,5 \pm 3,0**	43,3 \pm 2,4**	25,2 \pm 1,5
Фібриноген, г/л	2,20 \pm 0,62	2,00 \pm 0,68	1,30 \pm 0,24*	1,30 \pm 0,30*	2,30 \pm 0,25
Еуглобуліновий лізис, хв	208,8 \pm 7,3	182,7 \pm 8,1*	101,0 \pm 5,8***	101,7 \pm 5,2***	180,0 \pm 5,6*
ПФА	1,0	1,1	1,3	1,3	1,3
ХЗФ, хв	14,1 \pm 0,3	12,9 \pm 0,1	11,1 \pm 0,6*	11,1 \pm 0,3*	11,2 \pm 0,7*

Примітка. У табл. 1, 2: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,02$; *** — $P < 0,001$.



Вплив екстракту буркуну на плазмово-коагуляційні показники крові при 21-денному введенні кролям дозою 1,0 мл/кг

Досліджувані показники	Вихідний рівень, n=7	1-й тиждень введення	2-й тиждень введення	3-й тиждень введення	Через тиждень після введення
ТЧ	16,2±1,4	21,3±1,0**	26,2±1,0***	26,9±1,0***	17,2±0,4
ПЧ	11,0±0,5	15,1±0,4***	18,3±0,3***	18,7±0,5***	11,2±0,3
МНІ	1,0	1,4	1,66	1,7	1,0
АПТЧ	21,7±0,6	28,5±0,4***	35,3±1,0***	35,9±0,9***	24,9±0,7
Фібриноген, г/л	2,6±0,4	2,4±0,5	1,5±0,4**	1,3±0,3***	2,4±0,4
Еуглобуліновий лізис, хв	233,8±13,7	180,7±3,4*	103,9±9,8***	90,9±9,8***	169,4±3,4*
ПФА	1,1	1,3	1,4	1,4	1,4
ХЗФ, хв	14,3±0,2	12,2±0,7	10,7±0,9*	10,2±0,3**	10,2±0,7**

джуваних показників крові, аналогічні щодо дози 0,3 мл/кг.

Спричинював збільшення АПТЧ, ПЧ ЕБ дозою 1,0 мл/кг, що практично вірогідно відповідало попереднім даним. Через три тижні подовжився ТЧ на 68 % при одночасному зниженні вмісту фібриногену на 50 % ($P<0,001$). Післядія препарату відзначалася за показником АПТЧ — його подовження становило 14,7 % ($P<0,05$). Через три тижні зменшився ХЗФ на 28,7 % ($P<0,01$), ПФА збільшився з 1,13 до 1,43. Обидва показники залишалися на тому ж рівні через тиждень післядії.

У табл. 3 наведені дані коагулограми кролів під впливом курсового введення ЕБ дозою 3,0 мл/кг.

Отримані результати зберігали тенденцію попередніх серій експерименту. Через три тижні ТЧ подовжився на 85 % ($P<0,001$), ПЧ на 87 % ($P<0,001$), показник АПТЧ збільшився на 88% ($P<0,001$). Вміст фібриногену зменшився на 68 % ($P<0,001$).

Через тиждень після дії препарату подовження ТЧ зберігалася на рівні 32 % ($P<0,01$); ПЧ і АПТЧ — на 13 % ($P<0,02$) при зменшенні вмісту фібриногену на 61 % ($P<0,001$). Через два тижні післядії ТЧ практично відповідав вихідному рівню. Подовження ПЧ і АПТЧ становило 18 і 12 % ($P<0,05$) відповідно, а вміст фібриногену був

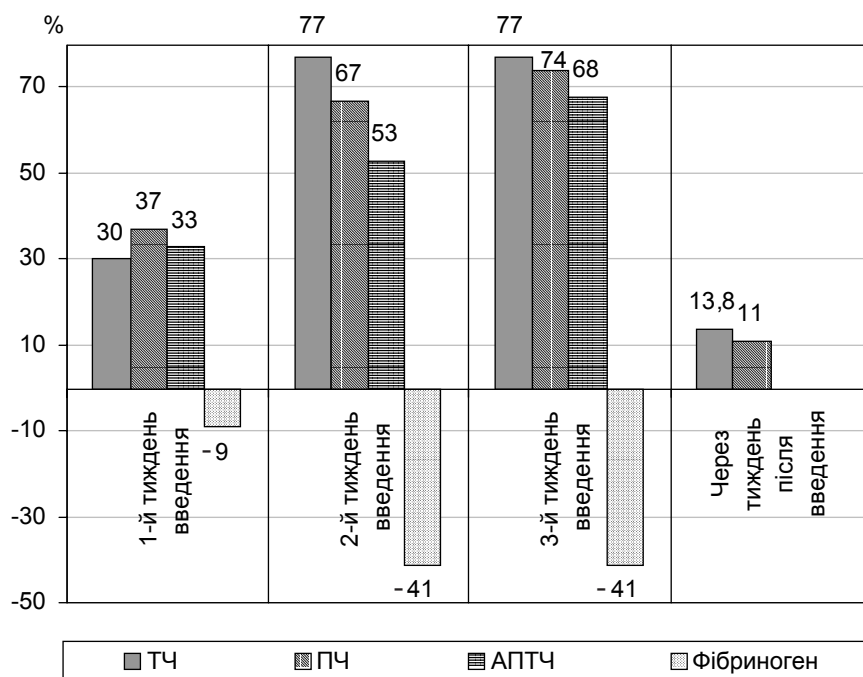


Рис. 1. Динаміка плазмово-коагуляційних показників крові під впливом курсового введення ЕБ дозою 0,3 мл/кг відносно вихідного рівня, %

нижче вихідного рівня на 18 % ($P<0,05$) (рис. 2).

Зменшення часу лізису еуглобулінового згустка при ХЗФ через три тижні введення ЕБ становило 30,1 % ($P<0,01$). Післядія через два тижні була нижче вихідного рівня на 26 % ($P<0,02$). Виріс ПФА з 1,27 до 1,41 і через два тижні післядії знаходився на тому ж рівні.

Таким чином, ЕБ при курсовому тритижневому введенні має односпрямовану гіпокоагулянтну дію. Десятикратне збільшення дози ЕБ (3,0 мл/кг) не викликало значущих змін досліджуваних показників, що може

бути пов'язано з позитивним фармакологічним впливом препарату на поліпшення кровообігу, активацію метаболізму, зменшення реабсорбції та гідрофільності в нирках. За даними Р. Б. Косуба і співавторів [6], відзначено стимулювальний вплив ЕБ на калій- і натрійуретичні показники та збільшення швидкості клубочкової фільтрації.

Отримані результати свідчать про активацію фібринолітичної системи, що виявляється в подовженні АПТЧ, зменшенні концентрації фібриногену, скороченні часу еуглобулінового лізису і ХЗФ.



Вплив ЕБ на плазмово-коагуляційні показники крові при 21-денному введенні кролям дозою 3,0 мл/кг

Досліджувані показники	Вихідний рівень, n=7	1-й тиждень введення	2-й тиждень введення	3-й тиждень введення	Через тиждень після введення	Через 2 тижні після введення
ТЧ	16,7±0,9	24,9±1,8**	29,5±1,1***	30,9±0,9***	22,1±0,5**	18,2±1,2
ПЧ	10,1±0,3	14,1±0,6***	18,1±0,3***	18,9±0,2***	11,5±0,3*	12,0±0,6*
МНІ	1,06	1,47	1,9	2,0	1,2	1,25
АПТЧ	17,5±0,5	24,6±0,8***	31,8±1,5***	33,0±1,0***	19,7±0,8*	19,6±0,3*
Фібриноген, г/л	2,8±0,3	1,4±0,5*	1,1±0,5***	0,9±0,4***	1,1±0,4***	2,3±0,3*
Еуглобуліновий лізис, хв	220,7±11,3	99,7±18,8***	77,4±6,3***	64,0±1,9***	76,0±9,45***	162,7±23,9**
ПФА	1,27	1,40	1,42	1,41	1,45	1,41
ХЗФ, хв	14,6±0,2	10,7±0,4**	10,4±0,1**	10,2±0,2**	10,2±0,2**	10,8±0,9*

Примітка. * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

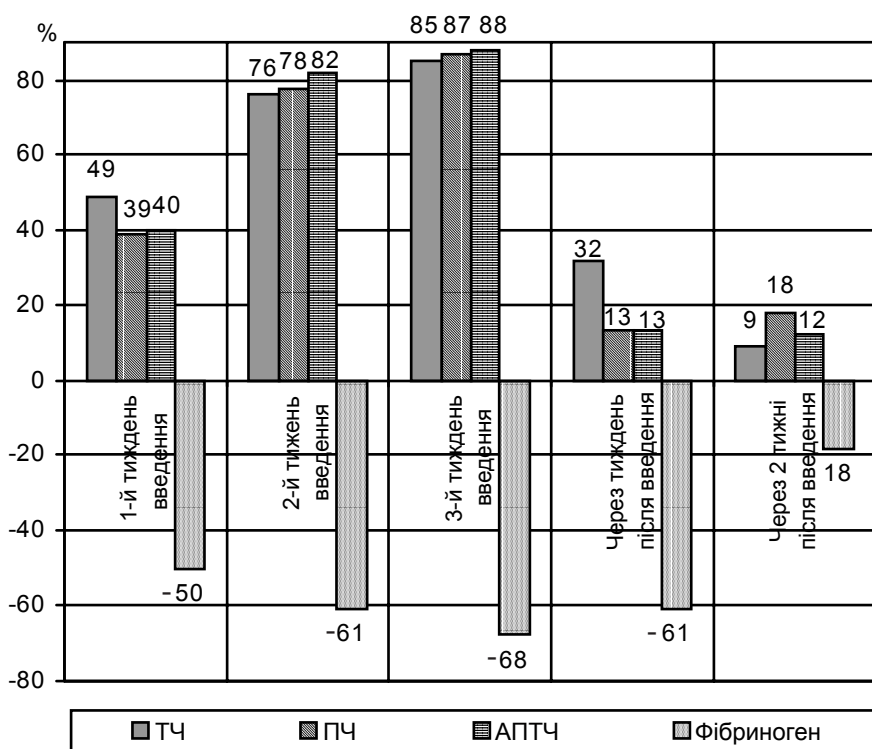


Рис. 2. Динаміка плазмово-коагуляційних показників крові під впливом курсового введення ЕБ дозою 3,0 мл/кг відносно вихідного рівня, %

Висновки

1. Одержані дані вірогідно свідчать про гіпокоагулянтні властивості ЕБ.
2. Курсове введення ЕБ активізує фібринолітичну систему крові.
3. Враховуючи те, що фібриноген є важливим плазмовим компонентом, який визначає в'язкість крові, застосування ЕБ, що сприяє вірогідному

- зниженню фібриногену, буде впливати на нормалізацію реології та мікроциркуляції крові.
4. Результати експерименту є обґрунтуванням для клінічної апробації ЕБ як м'якого рослинного гіпокоагулянта у комплексній терапії тромбозів різної локалізації, зокрема в офтальмології: при тромбозах ретинальних вен, макулодистрофії, діабетичній ретинопатії, глаукомі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аналитические и диагностические аспекты практической коагулологии: Метод. рекомендации / Ю. Кисилевский, В. Борец, В. Лелевич и др. — Гродно, 1997. — 80 с.
2. Горячковский А. М. Клиническая биохимия. — Одесса: Астропринт. — 1998. — 608 с.
3. Дмитриев В. В. Инструкция по определению коагуляционных свойств плазмы на коагулометре CGL 2110. — Минск, 1997. — 13 с.
4. Карасёва Т. Л., Кабанова Т. А., Фесюнова Г. С. Антиагрегационная активность тканевых препаратов ФИБСа и экстракта донника в опытах *in vitro* // Тези наук.-практ. конф. з міжнародною участю: «Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині», 17–18 вересня 2003 р. — Одеса: Астропринт, 2003. — С. 25.
5. Кінах М. В., Михайлович В. В. Антикоагулянтна терапія і її лабораторний контроль: Метод. рекомендації. — Львів, 2000. — 36 с.
6. Косуба Р. Б., Сотникова О. П., Гордієнко В. В. Функціональний стан нирок за умов дії адаптогенів природного походження (ФіБС, буркуну лікарського екстракт): Тез. наук.-практ. конф. з міжнародною участю «Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині», 17–18 вересня 2003 р. — Одеса. — С. 97–98.
7. Практическая трансфузиология / Под. ред. Г. И. Козинца. — М.: Триада-Х, 1997. — 435 с.

