

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Одеський національний університет імені І.І.Мечникова

Факультет хімії та фармацевції

Кафедра фармакології та технології ліків

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ВИКОНАННЯ
ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ
З КУРСУ «ФАРМАКОЛОГІЯ»

Одеса, 2019

УДК 615.01

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з курсу «Фармакологія» / Г.І.Сівко, І.М.Радаєва, А.О.Кобернік – Одеса: видавництво «Удача», 2019 – 40 стор.

Укладачі:

Г.І.Сівко, к.б.н., доцент

І.М.Радаєва, к.б.н., доцент

А.О.Кобернік, к.б.н., доцент

Рецензенти:

Грицук Олександр Михайлович, д.м.н., професор кафедри фармакології та технології ліків ОНУ імені І.І.Мечникова

Гузенко Олена Михайлівна, к.х.н., доцент кафедри аналітичної та токсикологічної хімії ОНУ імені І.І.Мечникова

Рекомендовано до друку Вченою Радою факультету хімії та фармації ОНУ імені І.І.Мечникова. Протокол № 3 від 22 жовтня 2019 р.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
1. Загальні положення проведення фармакологічних досліджень	
1.1. Лабораторні тварини	4
1.2. Шляхи, методи і режим введення лікарських засобів	5
2. Методи вивчення фармакокінетики та фармакодинаміки	6
3. Вибір шляху введення ліків	6
Заняття № 1	
Тема: Загальна фармакологія	7
Всмоктування	9
Розподіл по органам та тканинам	9
Метаболізм	10
Екскреція	10
Завдання № 1. Виконайте тестове завдання	11
Заняття № 2.	
Тема: Загальна фармакологія. Фармакодинаміка	12
Основні шляхи всмоктування речовин	14
Завдання № 1	
Зіставте	15
Завдання № 2. Виконайте тестове завдання	16
Заняття № 3	
Тема: Загальна фармакологія	16
Завдання № 1. Підберіть визначення для кожного виду доз	17
Заняття № 4	
Тема: Загальна фармакологія. Вивчення залежності «час-ефект»	17
Завдання № 1. Виконайте тестове завдання	20
Заняття № 5.	
Тема: Загальна фармакологія. Підсумкове заняття	23
Завдання № 1. Виконайте тестове завдання	25
Заняття № 6.	
Перевірка загальної рухової активності тварин	31
Заняття № 7.	
Визначення анксиолітичної активності препарату за методом «чорно-білої камери»	33
Заняття № 8.	
Визначення прояви депресивної дії препарату за методом Порсолта.	
Модель поведінкового відчаю	34
Заняття № 9.	
Вивчення анксиолітичної дії препарату в тесті "Конфліктна ситуація"	36
Заняття № 10.	
Вивчення методики тестування препарату по тесту «Хрестоподібного піднесеного лабіринту»	37
Перелік рекомендованої літератури	40

ВСТУП

Знання механізму дії дозволяє осмислено вибрати необхідний препарат для лікування конкретного захворювання. Крім того, знання механізму дії потрібне також для правильного комбінування ліків і передбачення можливого виникнення небажаних ефектів. Знання фармакокінетики лікарського засобу дає можливість здійснити індивідуальний підбір лікарської терапії цьому хворому, виходячи з особливостей функціонування його організму. Крім того, знання фармакокінетики препарату дозволяє передбачати появу небажаних ефектів, а також допомагає вибрати оптимальний режим дозування при цьому шляху введення для того, щоб забезпечити терапевтичну концентрацію лікарської речовини в області рецептора. Нерідко стоїть складне завдання - вибрати з великого арсеналу лікарських засобів не тільки найефективніший, а й найменш токсичний, а також зменшити ризик появи побічної дії. Це в значній мірі обумовлено тим, що при різних умовах одна і та ж речовина може виявитися ліками або отрутою. Іноді звичайні дози ЛЗ замість бажаної дії можуть справити негативний вплив на організм, що пов'язують з індивідуальною чутливістю хворих до цього ЛЗ.

Звідси випливає необхідність знання особливостей фармакодинаміки і фармакокінетики лікарських засобів.

1. Загальні положення проведення фармакологічних досліджень

1.1. Лабораторні тварини

Дослідження фармакокінетики та фармакодинаміки рекомендується проводити на здорових, безсонних або наркотизованих тваринах однієї статі (бажано лінійних) з точно встановленим віком і масою тіла. Остання не повинна відхилятися від нормального значення для відповідного віку більш ніж на 10%. Необхідно використовувати не менше двох видів тварин, причому один з них не повинен ставитися до гризунів. Для фармакокінетичних, фармакодинамічних та токсикологічних досліджень доцільно застосовувати одні і ті ж види тварин.

1.2. Шляхи, методи і режим введення лікарських засобів

Вивчення властивостей лікарської речовини необхідно досліджувати при тих способах введення, які застосовуються при його фармакологічному, хіміо-терапевтичному та токсикологічному вивченні. При цьому навіть в тих випадках, коли лікарський засіб передбачається застосовувати тільки позасудинним шляхом, рекомендується вивчати фармакокінетику також і при внутрішньовенному введенні, якщо це дозволяє розчинність лікарської речовини. Такі дані необхідні для оцінки найважливіших фармакокінетичних параметрів, а також абсолютної біодоступності препарату.

Внутрішньовенно лікарські речовини можна вводити в хвостову вену мишей і щурів, вушні вени морських свинок і кроликів, стегові вени кішок та собак. У шлунок лікарські речовини вводяться зазвичай натщесерце (тварини не отримують їжі протягом ночі без обмежень у питній воді) за допомогою глоткового або дуоденального зонда. Додавання лікарських речовин в їжу або питну воду не рекомендується, оскільки в таких випадках важко забезпечити точне дозування.

Внутрішньом'язово лікарські засоби вводяться в стегову м'яз; підшкірно - в задню лапку мишей, щурів, кішок, собак; в бік (ближче до хребта) - морським свинкам, кроликам; накожно - на депіліровану поверхню спини або живота щурів, морських свинок, кроликів, собак. В залежності від виду лікарської форми можливі закапування розчинів або аплікація мазей на слизову оболонку ока, інстиляція в передню камеру ока, введення супозиторіїв, інгаляція парів, газів, аерозолів, зокрема шляхом приміщення тварин в камери приманок, внесення лікарських засобів в шкірні або м'язові кишені, імплантація під шкіру, в м'язи або порожнини і т.д. Обов'язковим елементом доклінічних випробувань є фармакокінетичне вивчення лікарської речовини при його одноразовому введенні.

2. Методи вивчення фармакокінетики та фармакодинаміки

Фармакокінетику лікарської речовини вивчають при введенні в декількох дозах (не менше двох), що відображають діапазон дозувань, при яких реалізується бажаний ефект лікарської речовини без ознак побічної дії.

Методи для вивчення фармакодинаміки повинні мати ряд важливих властивостей:

а) висока чутливість – здатність виявляти більшу частину тих відхилень від вихідного стану, на яке намагаються впливати, а також оцінювати позитивні зміни в організмі.

б) висока специфічність – здатність відносно рідко давати "хибнопозитивні" результати.

в) висока відтворюваність м здатність даним методом стабільно відображати характеристики стану хворих при повторних дослідженнях в однакових умовах у одних і тих же хворих при відсутності будь-якої динаміки в стані цих хворих за іншими клінічними даними.

Фармакокінетика вивчає особливості надходження препарату в організм в залежності від шляху введення, всмоктування, зв'язку з білками, плазми крові, розподіл і елімінацію ліків та їх метаболітів з організму.

3. Вибір шляху введення ліків

Вибір шляху введення ліків залежить від здатності розчинятися у воді або ліпідах, їх діючої речовини, локалізації патологічного процесу і ступеня тяжкості захворювання. За класифікацією академіка В.М. Карасика всі шляхи введення лікарських засобів можна розділити на 2 види:

а) без порушення цілісності шкірних покривів – через рот (всередину), через пряму кишку, інгаляційно, інтраназально, трансдермально і т.п.;

б) з порушенням цілісності шкірних покривів – підшкірно, внутрішньом'язово, внутрішньовенно, в порожнині плеври, очеревини, суглобів, інтралюмбально, в шлуночки мозку і т.п.

Лікарські препарати можуть долати тканинні бар'єри за допомогою наступних механізмів:

1. Пасивна дифузія через "водні пори" по градієнту концентрації між ендотеліальними клітинами капілярів лише для солубілізованих молекул, що мають масу не більше 30 000 дальтон. Між клітинами епідермісу, епітелію слизової оболонки шлунково-кишкового тракту і т.п. проміжки менше, і через них можуть фільтруватися молекули з масою не більше 150 дальтон (наприклад, іони).

2. Пасивна дифузія через мембрани клітин по градієнту концентрації для ліпідорозчинних речовин. Це – найбільш важливий механізм, так як для більшості ліків характерна значно більша розчинність в ліпідах, ніж у воді.

3. Спрощена дифузія через мембрани клітин за допомогою спеціальних носіїв: білків-ферментів або транспортних білків. Так здійснюється перенесення глюкози в тканини або транспорт амінокислот через гематоенцефалічний бар'єр і плаценту.

4. Активний транспорт через клітинні мембрани проти градієнта концентрації за участю транспортних систем і з витратою енергії. У дітей і людей похилого віку такий шлях проникнення ліків погано розвинений. Робота даного активного механізму залежить від стану серцево-судинної системи, гемодинаміки в конкретному органі чи тканині.

5. Піноцитоз - поглинання позаклітинного матеріалу мембранами з утворенням везикул. Цей процес особливо важливий для лікарських засобів поліпептидної структури з молекулярною масою більше 1000 килодальтон.

Заняття № 1

Тема: Загальна фармакологія

Мета заняття: вивчити загальні закономірності всмоктування, розподілу, біотрансформації та виведення лікарських засобів.

Питання для підготовки до заняття:

1. Вплив фармакокінетики лікарських засобів на прояв їх механізму дії.
2. Основні складові елементи фармакокінетики або етапи руху лікарських засобів в організмі.
3. Проникнення лікарських засобів через біологічні мембрани.
4. Ентеральні і парентеральні шляхи введення лікарських засобів в організм.
5. Всмоктування лікарських засобів при різних шляхах введення в організм.

Поняття біодоступності.

6. Розподіл лікарських речовин в організмі.
7. Перетворення ліків в організмі.
8. Шляхи виведення лікарських препаратів і (або) їх метаболітів з організму.
9. Початок дії, максимум ефекту і тривалість дії ліків при їх вживанні, підшкірному, внутрішньом'язовому та внутрішньовенному введенні.

У загальній фармакології наводяться загальні закономірності фармакокінетики і фармакодинаміки лікарських засобів. Фармакокінетика - це розділ фармакології про всмоктування, розподіл в організмі, метаболізм та виведенні речовин. Ефекти лікарських засобів є результатом їх взаємодії з організмом. У зв'язку з цим спеціально розглядаються не тільки основні властивості речовин, що визначають їх фізіологічну активність, але також залежність ефекту від умов їх застосування і стану організму, на який спрямована дія речовини.

Крім того, обговорюються найбільш важливі види фармакотерапії, а також загальні закономірності побічної та токсичної дії лікарських засобів.

Фармакокінетика (від грец. *Фάρмаκον* – ліки і *κίνησις* – рух) – розділ медицини, що вивчає кінетичні закономірності хімічних і біологічних процесів, що відбуваються з лікарським засобом в організмі ссавців.

Інакше кажучи, фармакокінетика – це доля окремо взятої молекули лікарської речовини (біохімічна трансформація молекул ліків в організмі), а фармакодинаміка – це доля організму після дії цієї лікарської речовини (механізм дії та ефекти).

Основні фармакокінетичні процеси: всмоктування, екскреція (виведення), розподіл та метаболізм.

Всмоктування

У всіх випадках, коли лікарський засіб вводиться не в судинне русло, воно потрапляє в кров шляхом всмоктування; в разі твердої форми спочатку відбувається розчинення (вивільнення), потім молекули лікарської речовини проникають в системний кровотік, найчастіше шляхом простої дифузії з місця введення, а іноді за допомогою активного транспорту. Так звані пролонговані лікарські форми забезпечують повільне, контрольоване надходження лікарської речовини в організм та його біодоступність.

Всмоктування характеризується швидкістю і ступенем всмоктування (так званою біодоступністю). Ступінь всмоктування - це кількість лікарської речовини (у відсотках або в частках), яке потрапляє в кров при різних способах введення. Швидкість і ступінь всмоктування залежить від лікарської форми, а також від інших факторів.

Розподіл по органам та тканинам

В організмі лікарська речовина розподіляється між кров'ю, міжклітинної рідиною і клітинами тканин. Розподіл залежить від відносної спорідненості молекул лікарської речовини до біомакромолекул крові та тканин. Необхідна умова реалізації фармакологічної дії лікарської речовини - його проникнення в тканини-мішені; навпаки, потрапляння лікарської речовини в індіферентні тканини знижує діючу концентрацію і може привести до небажаних побічних ефектів (наприклад, до канцерогенезу). Для кількісної оцінки розподілу дозу лікарської речовини ділять на його початкову концентрацію в крові (плазмі, сироватці), екстрапольовану до моменту введення, або використовують метод статистичних моментів. Отримують умовну величину обсягу розподілу (обсяг рідини, в якому потрібно розчинити дозу, щоб отримати концентрацію, рівну уявній початковій концентрації). Для деяких водорозчинних лікарських речовин величина обсягу розподілу може приймати реальні значення, що відповідають об'єму крові, позаклітинній рідині або всієї водної фази організму. Для жирор-

розчинних лікарських засобів ці оцінки можуть перевищувати на 1-2 порядки реальний обсяг організму завдяки виборчої акумуляції лікарської речовини жиrowими та іншими тканинами.

Метаболізм

Лікарські речовини виділяються з організму або в незміненому вигляді, або у вигляді продуктів їх біохімічних перетворень (метаболітів). При метаболізмі найбільш поширені процеси окислення, відновлення, гідролізу, а також сполуки з залишками глюкуронової, сірчаної, оцтової кислот, глутатионом. Метаболіти, як правило, більш полярні і краще розчинні у воді в порівнянні з вихідною лікарською речовиною, тому швидше виводяться з сечею. Метаболізм може протікати спонтанно, але частіше за все каталізується ферментами (наприклад, цитохромами), локалізованими в мембранах клітин та клітинних органел печінки, нирок, легенів, шкіри, мозку та інших; деякі ферменти локалізовані в цитоплазмі. Біологічне значення метаболічних перетворень - підготовка ліпороzчинних лікарських засобів до виведення з організму.

Екскреція

Лікарські речовини виводяться з організму с сечею, калом, потом, слиною, молоком, з повітрям, що видихається. Виведення залежить від швидкості доставки лікарської речовини в видільний орган з кров'ю та від активності власних видільних систем. Водорозчинні лікарські речовини виводяться, як правило, через нирки. Цей процес визначається сумою трьох основних процесів: гломерулярної (клубочкової) фільтрації, каналцевої секреції та реабсорбції. Швидкість фільтрації прямо пропорційна концентрації вільної лікарської речовини в плазмі крові; каналцева секреція реалізується насичуваними транспортними системами в нефроні та характерна для деяких органічних аніонів, катіонів та амфотерних з'єднань; реабсорбції можуть піддаватися нейтральні форми лікарських речовин. Полярні лікарські речовини з молекулярною масою понад 300 виводяться переважно з жовчю і далі з калом: швидкість виведення

прямо пропорційна потоку жовчі та відношенню концентрацій лікарської речовини в крові та жовчі.

Решта шляху виділення менш інтенсивні, але можуть бути досліджені при вивченні фармакокінетики. Зокрема, нерідко аналізують вміст лікарської речовини в слині, оскільки концентрація в слині для багатьох препаратів пропорційна їх концентрації в крові, досліджують також концентрацію лікарських речовин в грудному молоці, що важливо для оцінки безпеки грудного вигодовування.

Завдання № 1. Виконайте тестове завдання

1. Фармакокінетика вивчає процеси:

- а) всмоктування лікарських засобів;
- б) розподілу та біотрансформації лікарських засобів;
- в) виведення лікарських засобів;
- г) механізм дії лікарських засобів.

2. Що таке біодоступність лікарських засобів?

- а) кількість препарату, що всмоктався в шлунково-кишковому тракті;
- б) частину від введеної дози препарату (виражена в%), яка в незмінному вигляді досягає системного кровотоку;
- в) кількість речовини, яка надійшла до рецептора.

3. Основний механізм всмоктування лікарських засобів в шлунково-кишковому тракті:

- а) активний транспорт;
- б) полегшена дифузія;
- в) пасивна дифузія через мембрани клітин;
- г) пиноцитоз.

4. Ентеральний шлях введення лікарських засобів:

- а) внутрішньом'язовий;
- б) інгаляційний;
- в) сублінгвальний;

г) внутрішньовенний.

Заняття № 2.

Тема: Загальна фармакологія. Фармакодинаміка

Мета заняття: вивчити загальні закономірності механізмів дії лікарських засобів, ефектів при їх спільному та повторному застосуванні, залежність фармакодинаміки від індивідуальних особливостей організму.

Питання для підготовки до заняття:

1. Основні принципи дії лікарських речовин.
2. Поняття про специфічні рецептори, агоністи та антагоністи.
3. Фармакологічні ефекти.
4. Види дії лікарських засобів.
5. Фізико-хімічні властивості ліків.
6. Дози (види доз, широта терапевтичної дії).
7. Залежність дії лікарських засобів від статі, віку, стану, генетичних факторів, індивідуальних особливостей організму.
8. Комбінована дія лікарських засобів (синергізм, антагонізм, антідотізм).
9. Зміна дії ліків при їх повторних застосуваннях. Звикання, пристрасті, тахіфілаксія, кумуляція.
10. Побічна дія ліків.
11. Негативна дія ліків (токсична, тератогенна, ембріотоксична, мутагенна, канцерогенна, алергічна).

Фармакодинаміка – розділ фармакології, що вивчає біохімічні ефекти та фізіологічні дії ліків на тіло людини, на мікроорганізми або паразити, що знаходяться всередині тіла людини або зовні. Вона також вивчає механізми дії ліків, зв'язок між концентрацією лікарських речовин і досягнутою ними дією. Ефекти, що досягаються висловлюють у вигляді рівняння $L + R \leftrightarrow L * R$, де L – це ліганд (ліки), R – це рецептор (місце для вкладання дії). Іноді кажуть, що фармакодинаміка – це наука про дію ліків на тіло людини, тоді як фармакокінетика – це наука про дію тіла на ліки.

Більшість лікарських засобів повторюють або пригнічують нормальні фізіологічні / біохімічні процеси. В інших випадках вони пригнічують патологічні процеси або життєво важливі процеси в ендо- або ектопаразитах, в мікроорганізмах.

Відзначають 5 головних ефектів, що надаються лікарськими засобами:

- переважний,
- стимулюючий,
- руйнує клітини (цитотоксичний),
- подразнюючий,
- заміщає відсутні речовини.

Лікарські речовини надають як бажані, так і небажані дії. До числа перших відносять:

- порушення клітинних мембран. Зокрема, вважали, що засоби для загального наркозу порушують мембрани нейронів, змінюючи рух іонів Na^+ ;
- хімічні реакції. Так, антациди хімічно з'єднуються в організмі з кислотними продуктами;
- взаємодія з ферментними білками. Зокрема, аспірин необоротно пригнічує циклогеназу, ніж запобігає запальну відповідь;
- взаємодія зі структурними білками. Так колхіцин взаємодіє зі структурними білком тубуліном;
- взаємодія з білками-переносниками;
- взаємодія з іонними каналами.

До числа небажаних дій відносять:

- більшу ймовірність мутації клітини (канцерогенну дію),
- пошкодження клітини,
- взаємодія з клітиною (що підсумовує, множить або метаболічна),
- індукування фізіологічного пошкодження або ненормального хронічного стану.

Терапевтична широта при дії лікарських засобів є інтервал між кількістю лікарського засобу, яке дає ефект, і кількістю, що дає більше побічної дії, ніж бажаного результату.

Основні шляхи всмоктування речовин

Основним механізмом всмоктування лікарських засобів у тонкому кишечнику є пасивна дифузія. Незначну роль грає активний транспорт. Фільтрація через пори клітинних мембран практично не має значення. Всмоктування деяких білків і комплексу цианокобаламіна (вітамін В12) з внутрішнім чинником Касла здійснюється, по-видимому, шляхом піноцитозу.

Всмоктування з тонкої кишки відбувається відносно повільно. Воно залежить від функціонального стану слизової оболонки кишечника, його моторики та рН середовища, кількісної та якісної характеристики вмісту кишечника. Важливо мати на увазі, що з тонкої кишки речовини потрапляють в печінку (деяка частина їх інактивується) і лише потім в загальний кровотік. Слід враховувати, що деякі речовини неефективні при призначенні всередину, так як руйнуються під впливом ферментів шлунково-кишкового тракту (наприклад, інсулін), а також при певній реакції середовища (особливо в кислому середовищі шлунка, наприклад бензилпеніцилін).

Якщо препарат руйнується шлунковим соком або подразнює слизову оболонку шлунка, то його призначають в спеціальних капсулах, які розчиняються тільки в тонкій кишці. Для пролонгування дії лікарських засобів застосовують капсули, наповнені мікрокапсулами з різною товщиною оболонок, у тому числі відбувається постійне виділення речовини.

У зв'язку з тим, що системна дія речовини розвивається тільки після його попадання в кровотік, звідки воно надходить в тканини, запропонований термін «біодоступність». Він відображає кількість незміненої речовини в плазмі крові відносно початкової дози препарату. В даному випадку при ентеральному введенні величина біодоступності визначається втратами речовини при його всмоктуванні з травного тракту та при першому проходженні через печінковий

бар'єр. Для судження про біодоступність зазвичай визначають максимальну концентрацію речовини в плазмі крові і час, необхідний для її досягнення. Вимірюють також площу під кривою, що відбиває залежність між концентрацією речовини в плазмі крові та часом. Біодоступність речовини при внутрішньовенному введенні приймають за 100 %. Про біодоступності можна також судити по виділенню препарату із сечею за умови, якщо він не піддається біотрансформації. В окремих випадках критерієм біодоступності може служити величина фармакологічного ефекту, якщо він може бути точно визначений кількісно.

Завдання № 1

Зіставте

Види дії	Характеристика
1. Рефлекторна	А. Ефект розвивається на місці введення речовини
2. Резорбтивна	Б. Ефект розвивається після всмоктування речовини в системний кровотік
3. Місцева	В. Ефект розвивається внаслідок подразнення чутливих рецепторів

Клас лігандов	Характеристика
1. Повний агоніст	А. Має афінітет та не має внутрішньої активності
2. Частковий агоніст	Б. Має афінітет і максимальну внутрішню активність
3. Антагоніст	В. Володіє аффінітетом і менш, ніж максимальною внутрішньою активністю

Явище	Прояви
1. Кумуляція	А. Зниження ефекту ліків при їх повторному введенні
2. Толерантність (звикання)	Б. Фізичний та психічний дискомфорт при неможливості відновлення застосування лікарського препарату
3. Лікарська залежність	В. Непереборне прагнення до повторного застосування лікарського препарату
4. Абстиненція	Г. Накопичення препарату в організмі при його повторному введенні

Завдання № 2. Виконайте тестове завдання

1. Взаємне посилення ефекту одного лікарського засобу іншим називається:
 - а) синергізм;
 - б) антагонізм.
2. Як називається накопичення в організмі лікарського засобу при його повторних введеннях?
 - а) функціональна кумуляція;
 - б) сенсибілізація;
 - в) тахифилаксія.
3. Тератогенна дія - це:
 - а) пошкодження генетичного апарату зародкової клітини;
 - б) порушення диференціювання тканин плода, що викликає різні аномалії;
 - в) ефект, що викликає загибель плода в перші 12 тижнів.
4. Речовини, що володіють при взаємодії з рецепторами максимальної внутрішньої активністю:
 - а) повні агоністи;
 - б) антагоністи;
 - в) часткові агоністи.
5. Небажана дія лікарських речовин при їх застосуванні в терапевтичних дозах:
 - а) побічна дія;
 - б) токсична дія.

Заняття № 3

Тема: Загальна фармакологія

Мета заняття: вивчити поняття дози. Крива доза-ефект.

Доза – це кількість речовини на один прийом, виражене в мг/кг.

Біоскринінг – фармакологічний підхід, який включає певний набір методик для вивчення рядів нових з'єднань.

Основні види лабораторних тварин: миші, щури, кролики, коти, морські свинки, собаки, мавпи.

Види експериментів: а) на органах та тканинах- *in vitro*

б) на живих організмах – *in vivo*

Поняття дози:

Порогова доза (ПД) – викликає початкове дію невеликого ступеня;

Середня доза (СД) – обумовлює фармакологічну дію середнього ступеня;

Максимальна доза (МД) – викликає максимальну терапевтичну дію;

Порогова смертельна доза (ПСД) – обумовлює можливість летального результату;

Дози, що характеризують кількісно фармакологічний ефект:

ED₅₀ – (основна фармакологічна характеристика речовини), доза, що викликає ефект у 50 % піддослідних тварин;

ED₁₀ – порогова доза, що викликає ефект у 10 % тварин;

ED₁₀₀ – максимальна доза, що викликає ефект у 100 % піддослідних тварин;

LD₅₀ – летальна доза, що викликає загибель у 50 % піддослідних тварин

LD₁₀ – порогова летальна доза, що викликає загибель у 10 % піддослідних тварин;

LD₁₀₀ – максимальна летальна доза, що викликає загибель у 100 % піддослідних тварин.

Індекси, що використовуються в фармакологічних дослідженнях

Індекси вказують на міру токсичності речовини (чим вище індекс, тим менш токсична речовина)

ТІ (Терапевтичний індекс)

ТІ= LD₅₀/ ED₅₀

I_{СТД}(індекс специфічної терапевтичної дії)

I_{СТД} = ED₅₀(міорелаксація)/ ED₅₀(основний ефект)

Групам експериментальних тварин перорально вводять розчини досліджуваного препарату в інтервалі доз від 0,025 мг/кг до 10 мг/кг включно. Побудована за результатами експерименту крива залежності «доза-ефект» (рис. 1)

дозволяє судити про динаміку розвитку фармакологічного ефекту з'єднання в залежності від дози.

Хід роботи:

1. приготувати розчини досліджуваної речовини (дози: 0,025-2мг / кг).
2. зважити мишей та ввести приготовані розчини перорально групам експериментальних тварин (по 3 на дозу). В якості контролю використовують групу інтактних тварин.
3. провести досвід для контрольної групи мишей, а потім для тварин, яким були введені розчини препарату.
4. побудувати графічну залежність фармакологічного ефекту від дози.

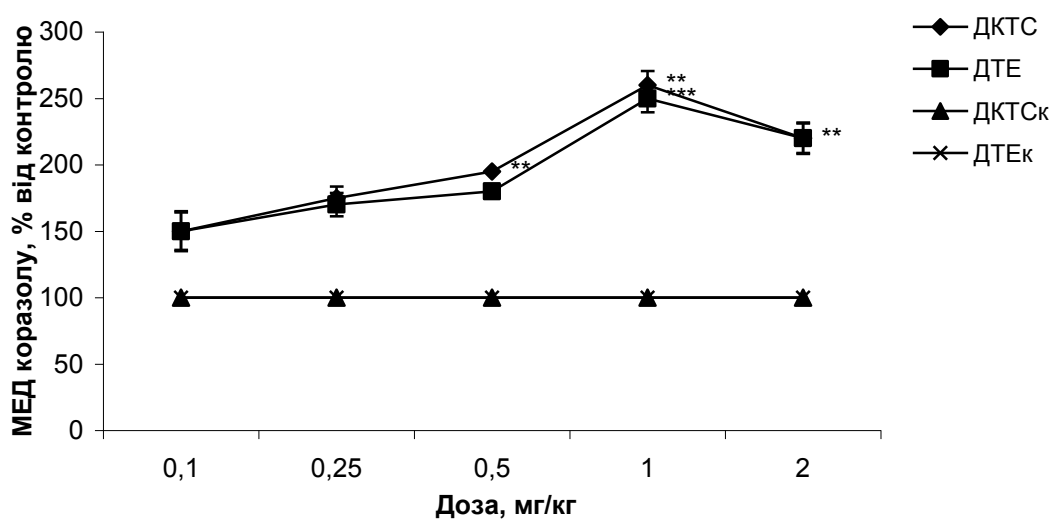


Рис.1. Крива залежності «доза-ефект».

Залежно від характеру кривої доза-ефект (розташування, кут нахилу, форма) можна судити про силу дії лікарської речовини, фармакокінетичні показники (транспорт, розподіл, перетворення, висновок), а також про спорідненість її з рецепторами. Для порівняння сили дії двох засобів і більше використовують відносну силу їх дії – визначення еквівалентних доз. Характер підйому кривої в певній мірі характеризує механізм дії лікарського засобу, а максимальний ефект – внутрішню його активність.

Завдання № 1. Підберіть визначення для кожного виду доз

Разова	Вища добова
Вища разова	Середня терапевтична
Добова	Курсова

1. Кількість речовини, що приймається протягом доби.
2. Кількість речовини, що викликає терапевтичний ефект у більшості хворих.
3. Кількість лікарської речовини на один прийом.
4. Максимальна кількість речовини на один прийом, встановлена в законодавчому порядку для сильнодіючих та отруйних речовин.
5. Кількість речовини, необхідне на курс лікування.
6. Максимальна кількість речовини, що приймається протягом доби.

Заняття № 4

Тема: Загальна фармакологія. Вивчення залежності «час-ефект»

Мета заняття: навчитися будувати графічну залежність фармакологічного ефекту від часу

Залежність «час-ефект»

Вибір індивідуальної дози нерідко тісно пов'язаний з частотою застосування лікарського препарату. Якщо інтервал дозування у порівнянні з періодом напіввиведення лікарського препарату довше, в цілому, такий інтервал необхідно підбирати, керуючись фармакодинамічними міркуваннями.

Наприклад, допускається порівнювати тривалий інтервал дозування з такою ж дозою при більш дробовому режимі, стежачи за збереженням бажаного ефекту у продовж усього інтервалу і небажаними явищами, які можуть виникати при максимальних концентраціях в крові. Всередині одного інтервалу дозування залежність доза-ефект при максимальній концентрації та в міру зниження концентрації може відрізнятися та залежати від обраного інтервалу дозування. У дослідженнях залежності доза-ефект в числі іншого необхідно враховувати час. Тривалість дослідження певної дози має бути достатньою, щоб повністю

проявилися ефекти лікарського препарату, незалежно від того, обумовлені чи відстрочені ефекти фармакокінетичними або фармакодинамічними факторами.

Залежність фармакологічного ефекту від часу при пероральному введенні препарату вивчається в інтервалі часу від 0,5 год до 4 год. Групам експериментальних тварин вводять препарат у розрахованій дозі. Протисудомний ефект оцінюють по антагонізму з коразолом, при його інфузії. В якості контролю використовують групу інтактних тварин. Будують графічну залежність.

Хід роботи:

1. Приготувати розчин досліджуваного препарату (доза: 2 мг/кг).
2. Зважити мишей та ввести приготований розчин перорально.
3. Провести експеримент для контрольної групи мишей, а потім тварин, яким був введений розчин препарату через 0,5, 1, 2, 3 та 4 год.
4. Побудувати криву залежності.

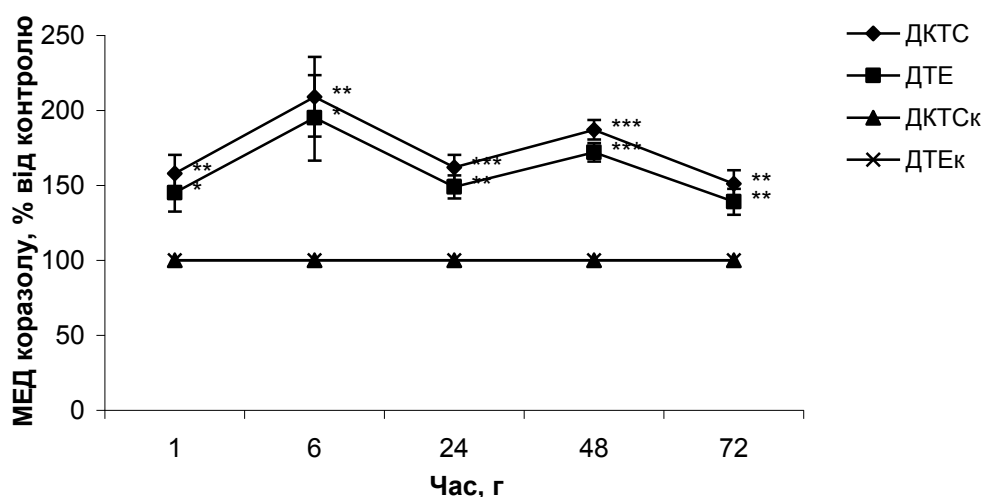


Рис.2. Крива залежності «час-ефект».

Завдання № 1. Виконайте тестове завдання

Здатність речовин зв'язуватися зі специфічними рецепторами позначається як:

1. Агонізм
2. Аффинитет

3. Внутрішня активність

Здатність лікарських речовин стимулювати специфічні рецептори називають:

1. Аффинитет
2. Внутрішня активність

Тератогенна дія:

1. Небажана дія на ембріон, без розвитку вроджених вад
2. Дія на ембріон, що приводить до природженої потворності

Ембріотоксична дія:

1. Небажана дія на ембріон, без розвитку вроджених вад
2. Дія на ембріон, що приводить до природженої потворності

Заходи допомоги, спрямовані на інактивацію отрути, що всмокталась:

1. форсований діурез
2. застосування сорбентів (вугілля активованого)
3. застосування проносних засобів
4. застосування антидотів
5. промивання шлунка

При передозуванні метилового спирту застосовують:

1. феназепам
2. кофеїн
3. спирт етиловий
4. налоксон
5. бупренорфін

Ентеральними шляхами введення вважаються:

1. через рот
2. в дванадцятипалу кишку
3. в пряму кишку
4. трансдермальний

5. внутрішньовенний

6. інгаляційний

Фармакокінетика – це розділ фармакології, що вивчає:

1. особливості всмоктування та виведення лікарських речовин
2. ускладнення лікарської терапії
3. біотрансформацію речовин в організмі
4. розподіл речовин в організмі
5. вплив ліків на генетичний апарат
6. механізми дії лікарських речовин

Біотрансформація – це:

1. процес, що характеризує виведення чужорідних речовин через нирки
2. розподіл речовин в організмі
3. процес зв'язування речовин з білками плазми
4. комплекс фізико-хімічних та біохімічних перетворень речовин в організмі

Основним змістом фармакодинаміки є:

1. біологічні ефекти лікарських речовин
2. механізми дії лікарських речовин
3. розподіл лікарських речовин в організмі
4. вивчення метаболізму лікарських речовин
5. виведення лікарських речовин з організму

Фактори, що впливають на ліки в шлунку:

1. пепсин
2. ліпаза
3. кисле середовище
4. помірно лужне середовище

Основний напрямок реакцій біотрансформації за участю цитохрома P-450:

1. зробити ліки більш токсичним
2. приєднання залишку оцтової кислоти

3. зробити молекулу більш гидрофільною
4. окислювати молекулу лікарської речовини

Побічна дія ліків може бути:

1. алергічна
2. основна
3. тератогенна
4. етіотропна
5. сприятлива для організму

Широтою терапевтичної дії називається діапазон доз:

1. від вищої терапевтичної до мінімальної токсичної
2. від середньої терапевтичної до мінімальної токсичної
3. від мінімальної терапевтичної до мінімальної токсичної

Ентерально застосовуються лікарські форми:

1. ін'єкції
2. свічки
3. краплі
4. мазі
5. таблетки

До поняття «звикання» мають відношення:

1. непереборний потяг до прийому речовини
2. посилення дії речовини при повторному прийомі
3. зниження дії речовини при повторному прийомі
4. прагнення відмовитися від його прийому

Заняття № 5.

Тема: Загальна фармакологія. Підсумкове заняття

Питання для самопідготовки:

1. Користь і ризик призначення ліків. Підстави для застосування ліків.

2. Фармакологія як наука. Розділи сучасної фармакології.
3. Основні поняття фармакології: фармакологічна активність, фармакологічна дія, фармакологічний ефект хімічних речовин.
4. Фактори, що забезпечують терапевтичний ефект лікарських засобів, фармакодинамічна дія, ефекти плацебо.
5. Лікарська речовина, лікарський засіб, лікарський препарат, лікарська форма.
6. Номенклатура лікарських засобів.
7. Поняття про оригінальні та генеричні лікарські препарати.
8. Поняття про фармакокінетику та фармакодинаміку.
9. Основні складові фармакокінетики.
10. Шляхи введення ліків в організм. Пресистемна елімінація лікарських речовин.
11. Перенесення ліків через біологічні бар'єри: основні механізми та детермінанти.
12. Біодоступність ліків: сутність, детермінанти, залежність від пресистемної елімінації і лікарської форми. Біодоступність і якість лікарських засобів.
13. Розподіл ліків в організмі. Відсіки розподілу, молекулярні ліганди ліків. Детермінанти розподілу. Роль кровотоку.
14. Доза. Види доз. Одиниці дозування лікарських засобів.
15. Способи введення лікарських засобів в організм: ентеральні, парентеральні. Достоїнства та недоліки. Вибір способу введення в залежності від цілей терапії.
16. Індивідуальні, вікові і статеві відмінності фармакокінетики ліків. Поправки для розрахунку індивідуальних значень обсягу розподілу.
17. Біотрансформація лікарських засобів, її біологічний сенс, основна спрямованість метаболічних перетворень ліків.
18. Клінічне значення біотрансформації ліків. Вплив статі, віку, маси тіла, куріння, алкоголю, ксенобіотиків на біотрансформацію ліків.

19. Метаболічна взаємодія ліків. Хвороби, що впливають на біотрансформацію лікарських засобів.

20. Шляхи та механізми виведення ліків. Можливості управління процесами виведення ліків.

21. Обсяг розподілу: сутність, розмірність, кількісне вираження, детермінанти.

Завдання № 1. Виконайте тестове завдання

1. «Ідіосинкразія»:

- а) підвищення чутливості до препарату
- б) зниження чутливості до препарату
- в) накопичення препарату в плазмі крові
- г) жоден з відповідей

2. «Тахіфілаксія»:

- а) накопичення ефекту після введення лікарського засобу
- б) звикання до лікарського засобу
- в) звикання, що виникають дуже швидко, іноді після першого введення
- г) алергічні реакції

3. Підвищена чутливість до лікарської речовини:

- а) алергічна реакція
- б) ідіосинкразія
- в) кумуляція
- г) тератогенність

4. Біодоступність лікарського препарату це:

а) кількість лікарської речовини, що визначається в крові через дві години після його застосування

б) відношення в процентах кількості лікарської речовини, розчиненого в плазмі крові через певний час після його прийому, до прийнятої дози препарату всередину

в) жоден з відповідей

5. На біодоступність лікарських засобів впливають:

а) лікарська форма

б) дія ферментів печінки

в) патологія нирок

г) руйнування в шлунково-кишковому тракті

6. У результаті біотрансформації лікарський засіб стає:

а) більш ліпофільним

б) більш гідрофільним

в) швидше виводиться нирками

г) легше поширюється в організмі

7. Парентеральні шляхи введення – це:

а) введення лікарських засобів per os

б) ін'єкційні введення

в) введення лікарських засобів per rectum

г) введення інгаляційно лікарських засобів

д) введення лікарських засобів через шкіру

8. При виборі шляху введення лікарських речовин необхідно враховувати:

а) біодоступність

б) лікарську форму

в) стійкість препарату в травних соках

г) мета терапії

9. Механізм проникнення лікарських речовин через мембрани шляхом пасивної дифузії здійснюється:

а) за градієнтом концентрації речовини

б) через пори мембран за рахунок гідростатичного та осмотичного тиску без витрат енергії

в) за допомогою транспортних систем та витрат енергії, яка утворюється в результаті розщеплення АТФ

10. Ректальний шлях введення лікарських речовин:

- а) найбільш фізіологічний
- б) лікарські речовини не піддаються біотрансформації в печінці
- в) призначений тільки для введення розчинів
- г) застосовується для одночасного впливу на багато органів і системи

11. До ентеральних шляхів введення лікарських речовин відносяться:

- а) введення в пряму кишку
- б) субарахноїдальний шлях
- в) введення через зонд в шлунок
- г) сублінгвально

12. Механізм проникнення лікарських речовин через мембрани шляхом фільтрації:

- а) за градієнтом концентрації речовини
- б) через пори мембран за рахунок гідростатичного і осмотичного тиску без витрат енергії
- в) за допомогою транспортних систем і витрат енергії, яка утворюється за рахунок розщеплення АТФ
- г) шляхом інвагінації мембрани з утворенням бульбашки і захопленням великих молекул

13. Механізм проникнення лікарських речовин через мембрани шляхом активного транспорту:

- а) за градієнтом концентрації речовини
- б) через пори мембран за рахунок гідростатичного і осмотичного тиску без витрат енергії
- в) за допомогою транспортних систем і витрат енергії, яка утворюється за рахунок розщеплення АТФ

г) шляхом інвагінації мембрани з утворенням бульбашки і захопленням великих молекул

14. Механізм проникнення лікарських речовин через мембрани шляхом піноцитозу:

а) за градієнтом концентрації речовини

б) через пори мембран за рахунок гідростатичного і осмотичного тиску без витрат енергії

в) за допомогою транспортних систем і витрат енергії, яка утворюється внаслідок розщеплення АТФ

г) інвагінація мембрани з утворенням бульбашки і захопленням великих молекул

15. «Виведення» – це:

а) виведення лікарських речовин з організму

б) інактивація лікарських речовин і їх екскреція

в) утворення метаболітів лікарських речовин

г) жоден з відповідей

16. «Синергізм»:

а) ослаблення дії взаємодіючих речовин

б) нейтралізація дії взаємодіючих речовин

в) посилення дії взаємодіючих речовин

г) жоден з відповідей

17. «Тератогенна дія»:

а) вплив лікарських засобів на статеві клітини

б) вплив лікарських засобів на плід

в) вплив лікарських засобів на генетичний апарат клітини

г) жоден з відповідей

18. Мутагенний ефект:

а) вплив лікарських засобів на статеві клітини

- б) вплив лікарських засобів на плід
- в) вплив лікарських засобів на генетичний апарат клітини
- г) жоден з відповідей

19. Канцерогенний ефект:

- а) вплив лікарських засобів на статеві клітини
- б) віз дію лікарських засобів на плід
- в) вплив лікарських засобів на генетичний апарат клітини
- г) жоден з перерахованих

20. Селективність-це прояв дії:

- а) загального
- б) прямого
- в) непрямого
- г) виборчого

21. Прі патології нирок виникають зміни фармакокінетики ліків:

- а) порушення ниркової екскреції
- б) збільшення концентрації ліків в плазмі крові
- в) зменшення зв'язування з білками плазми
- г) збільшення періоду напіввиведення

22. «Терапевтична широта» – це:

- а) діапазон доз від порогової до мінімальної токсичної
- б) діапазон доз від середньої терапевтичної до смертельної
- в) діапазон доз від середньої терапевтичної до мінімальної токсичної
- г) жодна з зазначених

23. Накопичення в організмі лікарських речовин при його повторних введеннях – це:

- а) пристрасть
- б) звикання
- в) матеріальна кумуляція

г) функціональна кумуляція.

24. Вказати положення, які вивчає фармакодинаміка:

- а) види взаємодії лікарських речовин з циторецепторами
- б) шляхи введення лікарських речовин в організм
- в) види дії лікарських речовин
- г) фактори, що впливають на дію лікарських речовин.

25. Вказати положення, які вивчає фармакодинаміка:

- а) всмоктування лікарських речовин та шляхи їх проникнення через мембрани
- б) зміна дії лікарських речовин при повторному введенні
- в) види лікарської терапії
- г) перетворення лікарських речовин, їх екскреція та елімінація.

26. Вказати положення, які вивчає фармакокінетика:

- а) види взаємодії лікарських речовин з циторецепторами
- б) шляхи введення лікарських речовин в організм
- в) види дії лікарських речовин
- г) фактори, що впливають на дію лікарських речовин.

27. Для введення лікарських речовин *per os* характерно:

- а) швидкий розвиток ефекту
- б) повільний розвиток ефекту
- в) залежність всмоктування лікарських речовин в кров від рН середовища хімусу, інтенсивності моторики шлунково-кишкового тракту
- г) можливість попадання в загальний кровотік, минаючи печінку.

28. Для введення лікарських речовин *per os* характерно:

- а) зручність застосування
- б) вплив на лікарські речовини ферментів шлунково-кишкового тракту
- в) надходження лікарських речовин в загальний кровотік тільки через систему ворітної вени печінки

г) можливість попадання в загальний кровотік, минаючи печінку.

29. Забезпечують потрапляння лікарських речовин в кровотік, минаючи печінку, шляхи введення:

- а) сублінгвальний
- б) підшкірний
- в) внутрішньоартеріальний
- г) жоден із зазначених

30. Забезпечують потрапляння лікарських речовин в кровотік, минаючи печінку, шляхи введення:

- а) підшкірний
- б) внутрішньовенний
- в) ректальний
- г) ентеральний

Заняття № 6.

Перевірка загальної рухової активності тварин

Методика тесту «Відкрите поле»

Дана модель, запропонована в 1968 році Бусьєром і Симоном, була обґрунтована та застосована для дослідження тривожної поведінки. Будучи надзвичайно чутливим до дії нейротропних препаратів, тест являє собою звичайну камеру з отворами - «норками» в підлозі, досить великими, щоб тварини могли просунути в них мордочки. До набору стандартних етологічних показників - локомоції, стійок, грумінгу, іммобільності, урінації, дефекації та ін. - додається специфічна норкова активність. Про її інтенсивність судять за кількістю заглядань в отвори, а також (в деяких дослідженнях) - за середнім часом заглядання в нірку і загального часу дослідження норок як функції перших двох. Зазвичай тест триває 3-10 хв. Слід зазначити, що лабораторні гризуни є нормними тваринами і обстеження ними отворів в підлозі можна розглядати як прояв уваги до конкретного об'єкту, що має біологічне значення, що носить характер дослідницької поведінки. Обстеження норок достовірно вище при першому пред'яв-

ленні, і коротшає при наступних. Показано стимулюючий вплив на норкову активність у ряду анксиолітиків та гнітюче - для анксиогенних препаратів або впливів. Психостимулятори і препарати з родинним профілем збільшують число стійок.

Ця методика застосовується для оцінки рухової активності та емоційності тварин.

Її використовують для поділу тварин на групи за темпераментом та для перевірки дії заспокійливих (седативних) ліків і стимуляторів.

Вид установки: камера розміром 40x40 см. Підлога камери розділена на 16 квадратів з отворами діаметром 1,5 см. Миша знаходиться в камері 3 хвилини.

Реєструють:

1. вертикальну активність (число вставання на задні лапи);
2. горизонтальну рухову активність (число переходів з квадрата в квадрат);
3. дослідницьку активність (число заглядань в отвори).

Хід роботи:

1. приготувати розчин з седативним препаратом (доза: 2 мг / кг).
2. зважити мишей і ввести приготований розчин перорально.
3. перевірити у відкритому полі контрольну групу мишей, а потім тварин, яким був введений розчин.
4. заповніть таблицю.

№ п/п	КОНТРОЛЬ				ДОСВІД			
	Верг. активність	Горизон. ак- тивність	Дослід. активність	Загальна двиг.актив.	Верг. активність	Горизон. ак- тивність	Дослід. активність	Загальна двиг.актив.
1.								
2.								
3.								
4.								

Заняття № 7.

Визначення анксиолітичної активності препарату за методом «чорно-білої камери»

Запропонований Ж. Краулі в 1980 році, тест заснований на протидії орієнтовно-дослідницької реакції (спрямованої на дослідження всієї камери) і страху, в даному випадку - перед освітленим відкритим простором світлого відсіку чорно-білої камери. При приміщенні тварини в темний відсік, реєструється його дослідницька активність, спрямована на вивчення світлої частини камери. При перебуванні тварини в світлому відсіку проявляється норковий рефлекс - втікання в бажаний «захищений» темний відсік. Традиційними показниками дослідницької активності є латентність першого виходу, кількість виходів в освітлений відсік (або число переходів між відсіками) і загальний час, проведений тваринами в світлому відсіку, а також число виглядань з відкритого відсіку камери. Саме число виглядань є найбільш адекватним, надійним та відтвореним індексом тривожності в даній моделі. Тварини зазвичай вважають за краще знаходитися в темному відсіку, проте анксиолітики збільшують число виходів і час, проведений в світлому відсіку, тоді як анксиогенні агенти або маніпуляції призводять до зворотних ефектів. Чорно-біла камера вважається однією з чутливих моделей гострої, «ситуативної» тривожності тварин, в якій свою активність здатне проявити більшість відомих класів анксиотропних препаратів.

Експериментальна камера складається з двох відсіків: темного (15x10 см) і освітленого (15x10 см), з'єднаних відчиненими дверцятами овальної форми. Стінки світлого відсіку залишаються прозорими, проте зверху (по центру на висоті 15 см над його прозорою кришкою) розташовується електрична лампа потужністю 40 Вт.

Загальна тривалість дослідження становить 3 хв. Тварина розміщується в центрі світлого відсіку хвостом до темного. Постановка методики вважається правильною в тому випадку, якщо час знаходження контрольної групи тварин в світлому відсіку камери становить - 25-30 сек.

Реєструють:

1) час перебування тварин в темному і світлому відсіках камери (норкову інстинкт);

2) кількість «виглядивань»;

3) кількість перебіжок з темного відсіку в світлий.

Всі три показника свідчать про наявність тривоги, страху та емоційної напруженості.

Хід роботи:

1. приготувати розчин досліджуваного препарату (доза: 2 мг / кг).

2. зважити мишей та ввести приготований розчин перорально.

3. перевірити у відкритому полі контрольну групу мишей, а потім тварин, яким був введений розчин.

4. заповнити таблицю.

№ п/п	КОНТРОЛЬ				ДОСВІД			
	Час, t (сек.), в світлому відсіку	Час, t (сек.), в темному відсіку	Кількість виглядивань	Кількість перебіжок	Час, t (сек.), в світлому відсіку	Час, t (сек.), в темному відсіку	Кількість виглядивань	Кількість перебіжок
1.								
2.								
3.								
4.								
5.								

Заняття № 8.

Визначення прояви депресивної дії препарату за методом Порсолта. Модель поведінкового відчаю

Поведінковий тест «відчаю», або вимушеного плавання набув широкого застосування при аналізі поведінкових ефектів препаратів. Тест заснований на спостереженні, що експериментальні тварини, «вимушені довго плавати в ситуації, якщо можливість вибратися з води відсутня, після початкового періоду активних спроб, зазвичай різко знижують свою активність до мінімуму, необхідного тільки для утримання голови на поверхні». При цьому стадія іммобільності, або «зависання» інтерпретується як прояв «відчаю», латентність та сумарна

тривалість якого можуть бути чутливі до дії введених препаратів. Так, практично всі використані антидепресанти приводили до зниження іммобільності у експериментальних тварин. Пізніше аналогічні ефекти були показані в цьому тесті для багатьох психотропних препаратів, проте наголошується, що нейролептики та анксиолітики часто виявлялися неефективними, хоча і не завжди. Відповідно до оригінальної інтерпретації, стресові впливи (наприклад, попередня іммобілізація) призводять до посилення «відчаю» в тесті, знижуючи плавальну активність тварин. Цікаво зауважити, що відсутність в моделі можливості уникнути небезпеки відповідає загальноприйнятій класифікації стресових станів, відображаючи саме стан депресії, ніж тривожності, страху, паніки та т.д. (Де можливість уникнення передбачається). Відзначається кореляція між зниженням рівня депресивності в даному тесті і деякими показниками зниженої тривожності в інших традиційних моделях (наприклад, підвищенням числа стійок у відкритому полі).

Депресія - стан, що характеризується апатією, тужливим настроєм, психічної загальмованістю. Антидепресанти - це речовини, які відновлюють настрій, психічну і рухову активність.

Хід роботи:

Для перевірки антидепресивної активності використовують тест Порсолта:

1. Експериментальна тварина поміщається в прозорий циліндр з водою (висота циліндра 40 см, діаметр -10 см, температура води 25 ° С, рівень води 25см).
2. Через 15 хвилин адаптації дістати мишу і висушити.
3. Досліджувану речовину (антидепресант) ввести тварині за 40-60 хвилин до початку експерименту.
4. Знову помістити тварину в циліндр і спостерігати протягом 3 хвилин, відзначаючи час іммобілізації у групі інтактних і дослідних тварин.
5. Час іммобілізації відзначається, коли миша плаває нерухомо, роблячи тільки невеликі руху, щоб не потонути.

Ефект антидепресантів виражається в зменшенні часу іммобілізації.

6. Створити таблицю і заповнити її.

Заняття № 9.

Вивчення анксиолітичної дії препарату в тесті

"Конфліктна ситуація"

Дослідження виконують на білих безпородних мишах самцях масою 22 - 25 г в умовах базисної моделі оцінки дії анксиолітиків (транквілізаторів).

Конфліктна ситуація створюється шляхом придушення больовим електричним подразником питного рефлексу у тварин з почуттям спраги при споживанні ними води з трубки-поїлки і заснована, таким чином, на зіткненні двох мотивацій – питної та оборонної (страху покарання при спробі задоволення питної потреби). Попередньо тварин позбавляють води на 48 годин, не обмежуючи їжу, і потім виробляють навик взяття води з поїлки, поміщаючи тварина в камеру, де вона знаходить поїлку з водою і починає пити. Камера має розмір 275x275x450 мм, електродну підлогу і поїлку з водою (посудину з соском на стіні), розташовану на висоті 5 см від підлоги. На наступний день тварина поміщають в камеру на 10 хвилин і через 10 секунд після початку пиття кожне взяття води карається електробольовим роздратуванням (0,5 мА). В результаті, щоб задовольнити питну мотивацію, мишка повинна подолати почуття страху перед покаранням. Ефект транквілізаторів полягає в усуненні почуття тривоги і страху та збільшенні числа караного узяття води за 10 хвилин перебування в камері.

Хід роботи:

1. приготувати розчин досліджуваного препарату;
2. зважити мишей та ввести приготований розчин перорально, тваринам контрольної групи ввести дистильовану воду в аналогічному обсязі;
3. через 30 хв. після введення помістити тварину в експериментальну камеру. Одночасно тестувати одну дослідну і одну контрольну особу;
4. Оформити дані експерименту.

Реєструють число караного узяття води за 10 хвилин перебування тварини в експериментальній камері.

Заняття № 10.

Вивчення методики тестування препарату по тесту

«Хрестоподібного піднесеного лабіринту»

Цей тест вважається однією з найбільш адекватних і чутливих моделей тривожності. Камера являє собою хрестоподібний піднятий над рівнем підлоги лабіринт два з чотирьох рукавів якого по периметру мають стінки («закриті рукава»), а інші – ні («відкриті рукава»). Тест є чутливим до поведінкових маніпуляцій, що підсилює стрес тварин, а також до традиційних анксиолітиків. Правомірність використання тесту в якості моделі тривожності виправдовується тим, що він заснований на тих же природних стимулах, які здатні викликати тривожність і у людей. В КПЛ використовується баланс між природним страхом тварин перед відкритим простором, висотою, новизною (неофобія) і одночасним прагненням досліджувати ці незнайомі умови. Аверсивність відкритих просторів може бути пов'язана з тігмотаксісом – природним прагненням тварин перебувати в «укритті» поблизу вертикальних поверхонь, якими є бортики закритих рукавів КПЛ. Різні препарати здатні зрушувати баланс перебування тварини в «відкритих» та «закритих» рукавах в ту чи іншу сторону, демонструючи відповідно наявність або відсутність анксиолітичних ефектів. Відкрита центральна платформа не викликає, незважаючи на очікування, сильного уникнення у тварин, які часто проводять на ній дуже істотну частину часу або надають рівну перевагу в порівнянні з закритими рукавами.

До основних традиційних показників рівня тривожності відносять число виходів і тривалість перебування тварин у відкритих рукавах («відкриті» виходи), а також співвідношення кількості виходів у відкриті: закриті рукава. Має сенс також використовувати процентне співвідношення кількості і часу перебування відкритих виходів до загальної кількості виходів.

Прийнято вважати, що в КПЛ анксиолітики збільшують показники рівня тривожності, проте можуть пригнічувати рухову активність. При цьому анксиогени призводять до зворотних ефектів. Ряд інших класів психотропних препа-

ратів також може надати ефекти на дані форми поведінки. Окремо слід розглянути значення стійок в КПП, так як щодо цього важливого показника існують різні думки. За однією класифікацією, стійки відносять не до показників оцінки ризику, а до «етологічного» параметра, які зазвичай використовують на додаток до описаних вище традиційних індексів тривожності. Стресорні впливи на тварин перед тестуванням в КПЛ підсилюють стійки, тоді як анксиолітики (наприклад, діазепам, флесіноксан і т.д.) знижують їх число. Іноді дуже цінну інформацію може дати реєстрація неспецифічної поведінки, куди відноситься грумінг (соціально значуще заміщене поведінку), іммобільність («затаювання», можлива захисна реакція на зовнішню загрозу), уринація та дефекація. Вкрай чутливими параметрами тривожності можна вважати показники поведінки, спрямованої на оцінку ризику. У параметри оцінки ризику входять повторні заходи (повернення) в закриті або відкриті рукава, заглядання вниз із закритих рукавів, а також – особливий «захисний» різновид стійок - витягування на задніх лапах (без опори передніми). В цілому, посилення тривожності тварин при поведінкових маніпуляціях або дія анксиогеннів підсилює показники оцінки ризику, тоді як анксиолітики їх знижують. Головною перевагою тесту залишається його простота і зручність і те, що тест не вимагає попереднього навчання тварин. Безсумнівним достоїнством також є чутливість до ряду препаратів, чий ефект іноді важко виявити в інших класичних моделях, наприклад, заснованих на умовно-рефлекторних реакціях, а також вкрай багатий набір поведінкових реакцій в даному тесті. Останнє важливо в плані детальності поведінкового аналізу і дозволяє отримати правильне уявлення про дію препарату в цілому - навіть при його неясних або суперечливих ефектах на будь-які окремі ключові показники.

Хід роботи:

Установка являє собою піднятий лабіринт. Ширина рукавів 10 см при довжині 45 см, висота стінок в закритих рукавах становить 10 см. У місці перетину рукавів розташовується центральний майданчик 10 x 10 см. Лабіринт розташовують на висоті 80 см над рівнем підлоги на центральній опорі-ніжці. Експери-

менти проводять на безпородних білих мишах-самцях масою 22-25 г, по 5 особин в досвіді і контролі. Препарати вводять дослідним тваринам перорально. Контрольній групі тварин вводять аналогічну кількість фізрозчину. Після введення препарату тварину на 45 хв поміщають в ізольовану камеру, потім плавно переносять до центру лабіринту, розташовуючи мордочкою в сторону відкритого рукава.

Тривалість тесту становила 5 хв.

Реєструють:

1. число виходів у відкриті рукава лабіринту (дослідницька активність);
2. число стійок (вертикальна дослідницька активність);
3. кількість заглядань вниз з кінців закритих рукавів (оцінка ризику);
4. число переходів через центральну платформу лабіринту протягом яких візуально реєстрували поведінкові характеристики.

Під виходом в рукав лабіринту мають на увазі будь-яке просування по рукаву лабіринту, якщо при цьому мордочка і все передні лапи тварини перетинають умовну лінію між центральною платформою і рукавом. Стійкою вважають таке заглядайте тварини, що знаходиться в закритому рукаві лабіринту, вгору (або вниз, перевешіваючись через стінку), якщо при цьому тварина піднімається над рівнем стінок на задніх лапках. Заглядання вниз («оцінка ризику») реєструють, якщо в закритому рукаві лабіринту спостерігалось перетин мордочкою тварини горизонтального кордону між краєм рукава і його умовним продовженням.

Під переходом через центральну платформу малося на увазі послідовне перетинання тулубом двох умовних ліній - кордонів між платформою і відкритими або закритими рукавами.

5. Заповнити таблицю.

Перелік рекомендованої літератури

1. Харкевич Д.А. Фармакологія / Д.А. Харкевич. Підручник – 8-е изд., Перераб. і доп. – М.: «ГЕОТАР-МЕДІА», 2005. – 760 с.
2. Керівництво до лабораторних занять з фармакології / Под ред. Д.А.Харкевича. – М.: Мед.інформ.агентство, 2004. – 451 с.
3. Головенко Н.Я. Механізми реакцій метаболізму ксенобіотиків в біологічних мембранах / Н.Я.Головенко. – К.: «Наукова думка», 1981. – 220 с.
4. Піотровські Е.Н. Використання кінетики метаболізму і виведення токсичних речовин в рішенні проблем промислової токсикології / Е.Н.Піотровські. – М.: «Медицина», 1976. – 195 с.
5. Лакін К.М. Біотрансформація лікарських речовин / К.М.Лакін, Ю.Ф Крилов. – М.: «Медицина», 1981 – 344с.