



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **147644** (13) **U**
(51) МПК (2021.01)
A61K 31/00
A61P 9/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2020 04794	(72) Винахідник(и): Гуменюк Микола Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 27.07.2020	(73) Володілець (володільці): ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "М.Т.К.", вул. М. Амосова, буд. 10, м. Київ, 03680 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 03.06.2021	(74) Представник: Якобчук Олена Миколаївна, реєстр. №268
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 02.06.2021, Бюл.№ 22	

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ АБО СТАБІЛЬНОЇ СТЕНОКАРДІЇ НАПРУГИ, АБО АТЕРОСКЛЕРОЗУ ПЕРИФЕРИЧНИХ СУДИН У ЛЮДИНИ

(57) Реферат:

Спосіб лікування хронічної ішемічної хвороби серця або стабільної стенокардії напруги, або атеросклерозу периферичних судин у людини, яка страждає хронічною ішемічною хворобою серця або стабільною стенокардією напруги, або атеросклерозом периферичних судин, при якому згаданій людині вводять фармацевтичну композицію, яка містить як активний компонент сіль аргініну та воду. Вводять фармацевтичну композицію, яка має таку лікарську форму як оральний розчин. Як сіль аргініну містить аргініну аспартат. Додатково містить як активний компонент левокарнітин. Додатково містить такі допоміжні компоненти, як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач і консервант. Фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для лікування хронічної ішемічної хвороби серця, стабільної стенокардії напруги, атеросклерозу периферичних судин.

UA 147644 U

UA 147644 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до способів профілактики і лікування захворювань серцево-судинної системи, зокрема ішемічної хвороби серця, стабільної стенокардії напруження, атеросклерозу периферичних судин.

До захворювань серцево-судинної системи належать такі захворювання як ішемічна хвороба серця, стабільна стенокардія напруження, атеросклероз периферичних судин.

Терміном ішемічна хвороба серця (скорочено ІХС) прийнято відзначати групу серцево-судинних хвороб, в основі яких лежить ураження міокарда, яке зумовлене розладами коронарного кровообігу і виникає внаслідок порушення рівноваги між доставкою і метаболічною потребою серцевого м'яза в кисні.

Потреба міокарда в кисні визначається, перш за все, частотою серцевих скорочень, скорочувальною функцією міокарда, розмірами серця і величиною артеріального тиску. Збільшення будь-якого з цих показників підвищує потребу міокарда в кисні. В нормальних умовах існує достатній резерв дилатації коронарних артерій, що забезпечує у разі потреби п'ятиразове збільшення коронарного кровотоку. Обмеження кровопостачання міокарда виникають через зменшення просвіту коронарної артерії понад 50 %. Невідповідність коронарного кровотоку метаболічним потребам серцевого м'яза завжди супроводжується ішемією міокарда, що проявляється клінічно приступом стенокардії, тяжкими розладами серцевого ритму і провідності, в деяких випадках виникненням інфаркту міокарда, інколи настає раптова смерть.

За Наказом № 54 МОЗ України у 2001 році, передбачається виділення таких форм ІХС:

1. Раптова коронарна смерть:

- раптова клінічна коронарна смерть з успішною реанімацією;
- раптова коронарна смерть (летальний кінець).

2. Стенокардія:

- стабільна стенокардія напруження з визначенням функціонального класу;
- стабільна стенокардія напруження, ангіографічно інтактні судини (коронарний синдром Х);
- вазоспастична стенокардія (ангіоспастична, спонтанна, варіантна, Принцметала).

3. Нестабільна стенокардія:

- первинна стенокардія;
- прогресивна стенокардія;
- рання постінфарктна стенокардія (з 3-ї до 28-ї доби інфаркту міокарда).

4. Гострий інфаркт міокарда:

- гострий інфаркт міокарда з наявністю патологічного зубця Q;
- гострий інфаркт міокарда без патологічного зубця Q;
- гострий інфаркт міокарда (невизначений);
- рецидивний інфаркт міокарда (від 3-ї до 28-ї доби);
- повторний інфаркт міокарда (після 28-ї доби);
- гостра коронарна недостатність.

5. Ускладнення інфаркту міокарда (із зазначенням часу виникнення):

- гостра серцева недостатність (класи за Т. Killip I-IV);
- порушення серцевого ритму і провідності;
- розрив серця зовнішній (з гемоперикардом, без гемоперикарда) і внутрішній (дефект міжшлуночкової перегородки, дефект міжпередсердної перегородки, розрив сухожилкової хорди, розрив сосочкового м'яза);

- тромбоемболії різної локалізації;

- гостра аневризма серця;
- синдром Дресслера;
- постінфарктна стенокардія (після 3-ї до 28-ї доби).

6. Кардіосклероз.

- Вогнищевий кардіосклероз:

- постінфарктний кардіосклероз (із зазначенням про перенесений інфаркт міокарда, його локалізацію і час розвитку);
- хронічна аневризма серця;
- вогнищевий кардіосклероз (без зазначення про перенесений інфаркт міокарда).

- Дифузний кардіосклероз.

7. Безболісна форма ІХС.

Основним етіологічним фактором ІХС є атеросклероз коронарних артерій. Важливими серед факторів, які сприяють його розвитку є такі: гіперліпідемія, артеріальна гіпертонія, висококалорійне харчування, ожиріння, цукровий діабет, паління, гіподинамія, генетична схильність, вік, чоловіча стать. Ішемія міокарда пов'язана з ураженням коронарних артерій

іншого походження (ревматизм, септичний ендокардит тощо), а також з гемодинамічними порушеннями некоронарного генезу (аортальні вади серця), до ІХС не належить і розглядається як вторинний синдром у рамках нозологічних форм.

Коронарний атеросклероз виявляється у 95 % хворих на ІХС. Атеросклеротична бляшка, яка збільшується, крововилив в основу бляшки з її розпадом, утворений тромб призводять до звуження просвіту або повного порушення прохідності, внаслідок чого виникає органічна обструкція коронарної артерії.

Атеросклероз поширене захворювання серцево-судинної системи. Цей патологічний процес лежить в основі частих причин смертності і інвалідності, таких як ішемічна хвороба серця, ішемічний інсульт, хронічні форми недостатності кровопостачання мозку, периферичні тромбози та ін. Атеросклероз - системне захворювання і нерідко призводить до одночасного ураження судин головного мозку, серця, нирок і кінцівок. Часто перші ознаки судинної недостатності виявляються в літньому віці, але можуть спостерігатися вже в середньому і навіть молодому віці.

Атеросклероз - це хронічне захворювання судин еластичного і м'язово-еластичного типу, тобто великих артерій. Основними патогенетичними подіями атеросклерозу є ліпідна, а точніше холестерин, інфільтрація інтим і розростання сполучної тканини в усій судинній стінці. На думку ряду авторів, саме сироватковий холестерин є істинним чинником ризику як атеросклерозу взагалі, так і його головного наслідку – коронарної хвороби серця. На перших стадіях патологічного процесу ліпідна інфільтрація має вигляд так званої жирової смужки, яка не височіє над поверхнею судинної стінки і не проявляється клінічно. Але надалі відбувається формування атероми і розростання сполучної тканини, що веде до формування атеросклеротичної бляшки, яка зменшує просвіт судини і може розриватися і покритися виразками, викликаючи тромбоемболічні ускладнення. Закриття просвіту судини на 70 % і більше вважається гемодинамічно значимим стенозом, при якому ризик ішемічних ускладнень дуже високий. За наявності великої атеросклеротичної бляшки дуже значний ризик порушення цілісності судинної стінки з подальшим розвитком тромбозу.

Також ендотелій судин виробляє судинорозширювальні речовини: простагландин, простациклін, та ендотеліальний розслаблюючий фактор (скорочено ЕРФ) оксид азоту (NO), які є також антиагрегантами. У хворих на ІХС порушується динамічна рівновага між ендотеліальними судинорозширювальними й антиагрегантними факторами, з одного боку, та судинозвужувальними і проагрегантними - з другого. Остання починає переважати, що призводить до розвитку коронаростазу та підвищення агрегації тромбоцитів. У прогресуванні ІХС істотне значення відводиться порушенням у системі гемостазу: зміни функції тромбоцитів, підвищення в'язкості крові, пригнічення фібринолізу, що може зумовити розвиток внутрішньосудинного тромбозу. Має значення недостатньо розвинута сітка колатерального коронарного кровопостачання. Доведено, що гіперпродукція катехоламінів, яка буває у разі стресових ситуацій, може бути причиною ураження міокарда. Слід звертати увагу на наслідки функціонального фізичного перевантаження серця.

Одним із лікарських засобів у лікуванні хворих на ІХС є аргінін. Аргінін (δ-гуанідин-α-аміновалеріанова кислота) - основна α-амінокислота, L-форма якої є напівнезамінною амінокислотою.

В гладком'язових клітинах судин, у тому числі коронарних артерій, аргінін взаємодіє з SH-групами (нітратними рецепторами), утворюючи оксид азоту (NO), який за структурою та дією подібний до ЕРФ. Аргінін завдяки своїм властивостям розширює артеріоли та периферичні вени, знижує загальний периферичний судинний опір, зменшує венозний відтік, а також розширює легеневі судини, що сприяє зниженню опору в малому колі кровообігу та приводить до регресії симптомів у разі набряку легень, зменшує кінцевий діастолічний тиск і об'єм шлуночків, завдяки чому зменшується потреба міокарда в кисні. Також аргінін розширює коронарні артерії та запобігає їхньому спазму, зменшує діастолічне напруження стінки шлуночків, внаслідок чого покращується коронарний кровоплин у зоні ішемії.

Відомий засіб для комплексної терапії ішемічної хвороби серця – препарат Тівортін, який містить аргініну у формі такої солі як аргініну гідрохлориду, та воду для ін'єкцій.

Недоліком відомого препарату є те, що він має таку лікарську форму як розчин для інфузій. Застосування такого препарату можливо лише при перебуванні хворого в умовах стаціонарного лікування людини, і введення препарату вимагає наявності у закладі стаціонарного лікування кваліфікованого досвідченого персоналу. Захворювання може мати різні ступені, може бути легкий ступінь або тяжкий ступінь – і в залежності від ступеня захворювання, людина може потребувати лікування або у стаціонарних умовах у спеціалізованих закладах, або може лікуватися амбулаторно. У певних випадках, наприклад, коли у людини відносно легкий ступінь

стенокардії, немає сенсу лікувати людину стаціонарно, доцільно проводити лікування людини саме амбулаторно.

З відкритих джерел відомо, що у кардіометаболічній терапії широко використовуються речовини з так званого класу коректорів метаболізму - інгібітори окиснення вільних жирних кислот, які впливають на активність ферментів, що беруть участь у біохімічних реакціях.

Відомим представником зазначених інгібіторів є левокарнітин (інша назва L-карнітин). Левокарнітин полегшує надходження довголанцюгових жирних кислот у мітохондрії клітин, таким чином надає субстрат для окиснення і утворення енергії, що значно покращує процес відновлення клітин серцевого м'яза при інфаркті міокарда. Левокарнітин пригнічує процес утворення атеросклеротичних бляшок у кровоносних судинах і сприяє розсмоктуванню бляшок, що вже утворилися.

Тим самим завдяки своїм властивостям левокарнітин зменшує сприяння на розвиток ІХС таких вищезазначених факторів як: гіперліпідемія, висококалорійне харчування, ожиріння, цукровий діабет, паління, гіподинамія, вік.

З рівня техніки невідомі фармацевтичні композиції для лікування ІХС, що містять одночасно аргінін та левокарнітин. У публікаціях зазначається застосування при терапії ІХС препарату, що містить аргінін, та препарату, що містить левокарнітин – але ці препарати застосовують не разом, прийом препаратів здійснюють з інтервалом часу між прийомами двох різних препаратів.

Задачею запропонованої корисної моделі є удосконалення способу лікування хронічної ішемічної хвороби серця або стабільної стенокардії напруги, або атеросклерозу периферичних судин у людини, розширення асортименту способів лікування хронічної ішемічної хвороби серця або стабільної стенокардії напруги, або атеросклерозу периферичних судин у людини, підвищення ефективності лікування хронічної ішемічної хвороби серця або стабільної стенокардії напруги або атеросклерозу периферичних судин у людини.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі лікування хронічної ішемічної хвороби серця або стабільної стенокардії напруги, або атеросклерозу периферичних судин у людини, яка страждає хронічною ішемічною хворобою серця або стабільною стенокардією напруги, або атеросклерозом периферичних судин, при якому згаданій людині вводять фармацевтичну композицію, яка містить як активний компонент сіль аргініну та воду, згідно з корисною моделлю, вводять фармацевтичну композицію, яка має таку лікарську форму як оральний розчин, як сіль аргініну містить аргініну аспартат, додатково містить як активний компонент левокарнітин, додатково містить такі допоміжні компоненти, як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач і консервант, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	180-320
левокарнітин	50-150
коригент рН, який є підкислювачем	1,5-6,0
підсолоджувач	0,4-1,2
консервант	0,5-2,0
вода	до 1 мл,

причому фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для лікування хронічної ішемічної хвороби серця, стабільної стенокардії напруги, атеросклерозу периферичних судин.

Вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	240-300
левокарнітин	80-120
коригент рН, який є підкислювачем	2,5-4,5
підсолоджувач	0,6-1,0
консервант	1,0-1,5
вода	до 1 мл.

Вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	264
левокарнітин	100
коригент рН, який є підкислювачем	3
підсолоджувач	0,8
консервант	1

вода до 1 мл.

Вводять фармацевтичну композицію, яка містить як коригент рН, який є підкислювачем, яблучну кислоту.

Вводять фармацевтичну композицію, яка містить як підсолоджувач сахаринат натрію.

Вводять фармацевтичну композицію, яка містить як консервант метилпарагідроксибензоат або пропілпарагідроксибензоат або суміш метилпарагідроксибензоату та пропілпарагідроксибензоату.

Вводять фармацевтичну композицію, яка містить як воду - воду для ін'єкцій.

Вводять фармацевтичну композицію, яка має щільність 1,1 г/мл, рН розчину 5-6,5, динамічну в'язкість при 20 °С 2,5 сП.

Фармацевтичну композицію вводять у складі комплексної терапії хронічної ішемічної хвороби серця, стабільної стенокардії напруження, атеросклерозу периферичних судин.

Фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є добовою дозою, 20-40 мл.

Такий компонент як підсолоджувач коригує смакові властивості фармацевтичної композиції – завдяки наявності у складі фармацевтичної композиції певного співвідношення яблучної кислоти та підсолоджувача досягається приємний для переважної більшості людей смак. Переважним варіантом є застосування як підсолоджувача такої речовини як сахаринат натрію (інша назва - сахарин натрію), який приблизно у 500 разів солодший за цукор.

Такий компонент як консервант надає розчину фармацевтичної композиції стабільності. Як консервант може бути використаний метилпарагідроксибензоат та/або пропілпарагідроксибензоат.

Вміст допоміжних речовин підібраний з урахуванням задачі досягнення великої концентрації активних компонентів та задачі досягнення стабільності розчину.

Аргінін у фармацевтиці часто застосовують у формі такої солі як аргініну аспартат, надалі у тексті під терміном "аргінін" буде розумітись саме така форма аргініну як аргініну аспартат.

Запропонована фармацевтична композиція є прозорим розчином, лікарська форма для застосування – оральний розчин. Спосіб виготовлення фармацевтичної композиції, яку вводять за запропонованим способом, показано у прикладах 1-20.

Приклад 1

Фармацевтичну композицію, яку вводять, виготовляють шляхом змішування у воді інших компонентів фармацевтичної композиції.

У реактор з нержавіючої сталі наливають 180 літрів нагрітої до 80 °С води для ін'єкцій. У реактор завантажують 0,08 кг метилпарагідроксибензоату і 0,02 кг пропілпарагідроксибензоату, та перемішують до повного розчинення. Потім рідину у реакторі охолоджують до температури 40 °С. Потім у реактор додають 36 кг аргініну аспартату, та інтенсивно перемішують протягом певного часу до отримання прозорого розчину. Потім в реактор завантажують 10 кг левокарнітину, і інтенсивно перемішують протягом певного часу до отримання прозорого розчину. Потім в реактор завантажують 0,3 кг яблучної кислоти, та перемішують до повного розчинення. Потім у реактор завантажують 0,08 кг сахаринату натрію і перемішують до розчинення компонентів та отримання прозорого розчину. Потім у реактор додають воду для ін'єкцій, доводячи об'єм розчину до 200 літрів. Отриманий розчин охолоджують, насичують азотом до залишкової кількості кисню не більше 300 ppm, після чого розчин фільтрують через мембранний фільтр. Після фільтрації розчин розливають в скляні або полімерні контейнери (пляшки).

Приклад 2

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргініну аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучну кислоту у кількості 0,6 кг, сахаринат натрію у кількості 0,13 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг та пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

Приклад 3

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучну кислоту у кількості 0,9 кг, сахаринат натрію у кількості 0,18 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

Приклад 4

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргініну аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості

Приклад 16

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 58 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,4 кг.

Приклад 17

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 10 кг, яблучну кислоту у кількості 0,7 кг, сахаринат натрію у кількості 0,14 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

Приклад 18

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучну кислоту у кількості 0,9 кг, сахаринат натрію у кількості 0,18 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,2 кг.

Приклад 19

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучну кислоту у кількості 1,1 кг, сахаринат натрію у кількості 0,22 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

Приклад 20

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно способу, описаному у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргініну аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,4 кг.

Виготовлення фармацевтичної композиції, яку вводять за запропонованим способом, можливо також іншими способами.

Для вивчення фармацевтичного ефекту від введення запропонованої фармацевтичної композиції у запропонованому способі було проведено низку досліджень.

Для вивчення таких властивостей як токсичність та терапевтичний ефект при лікуванні різних захворювань, було проведено низку доклінічних та клінічних досліджень. Далі у тексті надано дизайн проведених досліджень та результати проведених досліджень. Фармацевтична композиція надалі у тексті буде скорочено називатись ФК.

Для вивчення токсичності ФК, яку вводять у способі за технічним рішенням, було проведено наступне дослідження.

Задачею дослідження було вивчення параметрів гострої токсичності ФК, розчину для орального застосування, при внутрішньошлунковому введенні щурам обох статей (самцям, самицям).

У завдання дослідження входило:

- визначення класу гострої токсичності ФК на щурах обох статей при внутрішньошлунковому введенні;

- визначення класу гострої токсичності сухої суміші субстанцій ФК на щурах обох статей при внутрішньошлунковому введенні.

При виявленні летальності розрахувати LD₅₀ ФК, сухої суміші субстанцій.

Методи дослідження: токсикологічні, лабораторні, патоморфологічні і статистичні.

Об'єктом дослідження були: ФК, розчин для орального застосування; плацебо (розчинник); суха суміш субстанцій.

Дослідження проведене відповідно до Методичних рекомендацій по експериментальному (доклінічному) вивченню нових лікарських засобів (2001 р.), Наказом № 944 Державні Експертні центри МЗ України, і відповідає вимогам Good Laboratory Practice (GLP) - Належної лабораторної практики (НЛП).

Тестовані об'єкти:

1. ФК, розчин для орального застосування. Склад: діючі речовини левокарнітин, L - аргініну аспартат. 1 мл розчину містить 100 мг левокарнітину і 264 мг аргініну аспартату. Допоміжні речовини - кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

2. Плацебо (розчинник). Склад: кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

3. Суха суміш субстанцій ФК, розчину для орального застосування. Склад суміші: на 368,8 г, що відповідає 1000 мл ФК у вигляді розчину для орального застосування: діючі речовини:

левокарнітин - 100 г, аргініну аспартату - 264 г; допоміжні речовини: кислота яблучна - 3,0 г, сахаринат натрію - 0,8 г, метилпарагідроксибензоат (Е218) - 0,8 г, пропілпарагідроксибензоат (Е216) - 0,2 г.

Акліматизація і утримання тварин.

5 Тривалість акліматизаційного періоду для тварин склала 14 днів. Впродовж цього періоду проводили щоденний огляд кожної тварини (загальний стан, захворюваність). Перед початком дослідження тварини, що відповідають критеріям включення в дослідження, були розподілені по групах за допомогою методу рандомізації за масою. Тварин, які не відповідали критеріям включення в дослідження, - були виключені з експерименту.

10 Тварин містили в окремій кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря + 20-24 °С, вологість 45-65 %, світловий режим "12 годин день/ніч", в стандартних пластикових клітинах по 6 голів в кожній. Догляд за тваринами проводився відповідно до Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. - К.: Авіцена, 2002. - 156 с.

15 Тварини мали вільний доступ до води. Для питва використали відстояну водопровідну воду із скляних напувалок. Як корми використали гранульований повнораціонний комбікорм ТМ "ГОРА" (відповідає ТУ.У15.7-2123600159-001: 2007).

20 З тваринами поводитися відповідно до правил "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, використовуваних для експериментальних і наукових цілей".

Спостереження за тваринами.

Впродовж дослідження кожна тварина піддавалася щоденному огляду, який включав оцінку загальної поведінки і стану тварин. Патологічні утворення, що зорово виявляються, підлягали пальпації.

25 Досліди по вивченню гострої токсичності проводили на нелінійних безпородних білих щурах обох статей масою тіла 200±20 г, вік тварин - 13-15 тижнів. Всього в експерименті використано 210 щурів. Усіх тварин поділили на групи по 12 особин (6 самців, 6 самиць). Кожній тварині був присвоєний індивідуальний номер. До початку експерименту тварин нумерували наскрізною нумерацією від 1 до 210. Групи були сформовані методом випадкового відбору з використанням маси тіла як провідної ознаки (розкид по початковій масі між і усередині груп не перевищував 10 %). Дизайн дослідження представлений в таблиці 1.

Таблица 1

Дизайн дослідження

№ з/п	Групи тварин	Доза ТЗ	Кількість робочого розчину, мл/кг	Кількість тварин в групі	
				самці	самиці
Вивчення гострої токсичності ФК					
1.	Інтактний контроль	-	-	6	6
2.	Негативний контроль (розчинник)	40 мл/кг	-	6	6
3.	Тест-зразок (ФК)	40 мл/кг	-	6	6
Вивчення гострої токсичності сухої суміші субстанцій ФК					
4.	Тест-зразок (суха суміш субстанцій, які входять до складу ФК), мг/кг	15000	100	6	6
5.		20000	100	6	6
6.		30000	100	6	6
7.		35000	100	-	6
8.		40000	100	6	6
9.		50000	100	6	6
10.		60000	100	6	6

Таблиця 1

Дизайн дослідження

№ з/п	Групи тварин	Доза ТЗ	Кількість робочого розчину, мл/кг	Кількість тварин в групі	
				самці	самиці
Вивчення гострої токсичності окремих субстанцій діючих речовин ФК					
11.	Субстанція Левокарнітину, мг/кг	14000	20	6	6
12.		18000	20	6	6
13.		20000	20	6	6
14.		22000	20	6	6
15.	Субстанція L- аргініну аспартату, мг/кг	25000	20	6	6
16.		30000	20	6	6
17.		32500	20	6	6
18.		35000	20	6	6

Тваринам досліджених груп зразки вводили в об'ємі по 2 мл/100 г маси за одне введення і через 2 години між введеннями. Відразу після введення за тваринами спостерігали за проявами інтоксикації (у разі їх виникнення). Реєстрували характер дихання, рухової активності, наявність/відсутність судом, блювоти, діареї, офтальмологічні, серцево-судинні симптоми, саливацію, пилоерекцію, тонус м'язів. До їжі тварин допускали через 2 години після останнього введення тестового зразка (далі скорочено ТЗ), до води доступ був вільний.

Спостереження за тваринами вели впродовж 14 діб. Перед початком досліду і на 3, 7 і 14 діб реєстрували масу тіла тварин. На підставі відсотка загибелі тварин в кожній групі залежно від дози, що вводиться, розраховували середні летальні дози LD₅₀ за допомогою методу Кербера (Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. Стефанова О.В. - вид. дім "Авіцена", 2001. - 527 с.).

На 14-й день усіх тварин, які вижили, виводили з експерименту під інгаляційним наркозом. При розтині тварин проводили макроскопічну оцінку стану внутрішніх органів. Визначали абсолютну масу серця, печінки, селезінки, легенів, нирок, надниркових залоз, насінників і тимуса. Коефіцієнти маси (КМ) - відносну масу органів, розраховували по формулі:

$$KM_{\text{органа}} = \frac{m_{\text{органа}}}{M_{\text{тварини}}} \times 100\%$$

Досліджена гістологічна структура печінки, нирок, легенів, міокарда, тимуса, селезінки, надниркових залоз, підшлункової залози, стравоходу, шлунка, тонкої і прямої кишки, яєчок, яєчників щурів через 14 днів після внутрішньошлункового введення розчину ФК в дозі 40 мл/кг порівняно з гістологічною структурою аналогічних органів щурів, яким вводили плацебо (розчинник) в дозі 40 мл/кг (негативний контроль), і інтактними тваринами.

Отримані при розтині зразки органів фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заливали в парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum. Фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz з потужністю програми Tour View.

Отримані первинні дані оброблені за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з використанням параметричних критеріїв порівняння кількісних показників (дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) і непараметричних критеріїв (метод Крускала-Волліса, критерій Манна-Уїтні), для порівняння якісних змінних використали критерій χ². Перед використанням параметричних критеріїв проводилася перевірка гіпотези на нормальність розподілу випадкових величин з використанням тесту Левен).

Для множинних порівнянь був прийнятий рівень значущості p<0,050. При застосуванні непараметричних методів порівняння використали поправку Бонферроні, відповідно до якої рівень значущості склав p<0,0250. Для проведення математичних розрахунків використали стандартний пакет статистичних програм "Statistica 6.0".

Вплив ФК на виживаність білих щурів.

ФК, розчин для орального застосування, і плацебо (розчинник) вводили внутрішньошлунково 2-кратно по 2 мл/ 100 г тварини протягом одного дня з інтервалом 2

години. В сумі об'єм ТЗ, що вводиться, склав 40 мл/кг. Через 20-30 хвилин після першого введення ТЗ у тварин спостерігали зниження рухової активності, що, очевидно, пов'язано з великим об'ємом введених розчинів. Ці ознаки зникали через 1 годину, і надалі стан тварин не відрізнявся від стану тварин в групі ІК. Повторне введення розчинів тваринам також викликало аналогічні ознаки, які зникали через 1 годину.

Подальші спостереження впродовж 14 днів свідчили про те, що усі тварини були активними, мали задовільний апетит, нормально реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовипускання і дефекації були в нормі. Були відсутні ознаки порушення дихання, судом не спостерігали.

За увесь період спостереження ні в одній з експериментальних груп не відмічали загибелі тварин (таблиця. 2).

Таблиця 2

Результати дослідження летальності після внутрішньошлункового введення ТЗ щурам обох статей

Групи тварин	Доза, мл/кг ваги	Летальний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин в групі	
		самці	самиці
Інтактний контроль	-	0/6	0/6
Негативний контроль (розчинник)	40	0/6	0/6
Розчин ФК	40	0/6	0/6

Відповідно до методичних рекомендацій, важливим показником є маса тіла тварин, зміна якої характеризує вираженість токсичної дії ЛЗ. Відповідно до отриманих даних в усіх досліджених групах спостерігалася позитивна динаміка маси тіла (таблиця. 3). Приріст маси не відрізнявся від приросту в групі ІК як у самців, так і у самиць щурів.

Таблиця 3

Результати впливу ТЗ на динаміку маси (г) тіла щурів, n=6 (M±m)

Термін	PANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль (розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Самці				
PANOVA		0,0047	0,0007	0,1899
Початковий	0,9770	201±6	199±6	200±6
3 день	0,6916	208±7 P1N ^K =0,4608	201±5 P1N ^K =0,8108	202±6 P1N ^K =0,8707
7 день	0,8723	217±7 P1N ^K =0,1996	213±4 P1N ^K =0,1532	213±8 P1N ^K =0,4458
14 день	0,2314	236±6 P1N ^K =0,0042	230±5 P1N ^K =0,0013	220±8 P1N ^K =0,2285
Самиці				
PANOVA		0,0506	0,9418	0,0471
Початковий	0,9418	190±5	192±6	193±5
3 день	0,7859	198±6 p1NK=0,4470	193±5 p1N ^K =0,9929	198±6 p1N ^K =0,5916
7 день	0,1290	203±6 p1NK=0,3701	193±4 p1NK=0,9101	208±5 p1N ^K =0,2200
14 день	0,1072	218±10 p1NK=0,0381	196±6 p1NK=0,9392	218±8 p1N ^K =0,0482

Примітка:

1. PANOVA - рівень статистичної значущості між експериментальними групами або в кожній експериментальній групі (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA)
2. p1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату (критерій Ньюмена-Кейлса)
3. n - кількість тварин в кожній групі.

- 5 Аналіз показників коефіцієнтів маси внутрішніх органів тварин свідчить про відсутність токсичного впливу розчину ФК і плацебо при гострому передозуванні. Коефіцієнти маси внутрішніх органів знаходяться в межах фізіологічної норми і не відрізняються статистично значимо від показників тварин з групи ІК. Результати впливу ТЗ на коефіцієнти маси (%) внутрішніх органів щурів самців, n=6, M (Mmin÷Mmax) наведено в табл. 4.

Таблиця 4

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Печінка	0,7508	3,57 (3,18^3,84)	3,46 (2,84+3,45)	3,48 (2,97+3,87)
Нирки	0,7508	0,60 (0,53^0,65)	0,61 (0,63+0,70)	0,62 (0,50+0,66)
Серце	0,3722	0,31 (0,27^0,34)	0,31 (0,35+0,37)	0,34(0,33+0,40)
Легені	0,2359	0,55 (0,45^0,63)	0,79 (0,63+1,02)	0,74 (0,57+1,05)
Селезінка	0,7777	0,42 (0,31+0,61)	0,43 (0,35+0,56)	0,43 (0,31^0,55)
Надниркові залози	0,5034	0,022 (0,016+0,027)	0,020 (0,013+0,027)	0,023 (0,016^0,031)
Тимус	0,5225	0,133 (0,069+0,238)	0,103 (0,068+0,167)	0,111 (0,079^0,144)
Насінники	0,1190	1,05 (0,94+1,31)	1,13 (0,92+1,38)	1,17 (1,05^1,32)

Примітка:

1. pK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);
2. n - кількість тварин в кожній групі.

- 10 Результати впливу ТЗ на коефіцієнти маси (%) внутрішніх органів щурів самиць, n=6, M (Mmin÷Mmax) наведено в табл.5.

Таблиця 5

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Печінка	0,2501	3,43 (3,08: 3,92)	3,20 (2,84:3,45)	3,48 (2,97-3,87)
Нирки	0,0387	0,62 (0,52:0,67)	0,67 (0,63^0,70) p2M-u=0,0931	0,60 (0,50-0,66) p2M-u=0,4849
Серце	0,1979	0,34 (0,35^0,37)	0,36 (0,35^0,37)	0,36 (0,32-0,40)
Легені	0,6758	0,78 (0,58^0,86)	0,79 (0,63-1,02)	0,74 (0,57-1,05)
Селезінка	0,7378	0,49 (0,37^0,66)	0,46 (0,31-0,55)	0,44 (0,33-0,57)
Надниркові залози	0,9308	0,036 (0,020:0,044)	0,034 (0,021-0,047)	0,036 (0,028^0,046)
Тимус	0,9942	0,137 (0,096^0,195)	0,128 (0,071-0,160)	0,129 (0,053^0,202)

Примітка:

1. pK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);
2. p2M-U - рівень статистичної значущості відносно групи ІК (критерій Крускала-Волліса);
3. n - кількість тварин в кожній групі.

Результати макроскопічного дослідження.

- 15 У тварин досліджених груп (№1-3) стан шерстного покриву, слизових оболонок природних отворів не відрізнялося від таких у щурів інтактної групи і групи тварин, яким вводили плацебо.

Фекальні маси сформовані, анус і вхід в піхві не забруднені, яєчка розміщені в мошонці, рухливі. При розтині у всіх щурів розміщення органів середостіння, грудної і черевної порожнини відповідає нормальному. Тимус дещо варіює за розміром, сіро-рожевого кольору.

Серце звичайної конфігурації і розміру, з типовим розташуванням коронарних артерій і вен.
 5 Поверхня епікарда без особливостей, міокард на розрізі щільний. Легені заповнюють усю плевральну порожнину, блідо-рожеві, повітряні, без спайок між листками плеви. Загрудинні лімфовузли не збільшені. Очеревина прозора, гладка. У черевній порожнині стороннього вмісту не знайдено. Печінка рівномірного червоно-коричневого кольору, капсула не напружена, краї долей не закруглені. Поверхня органу гладка. Підшлункова залоза без ознак крововиливів, склерозу, жирових некрозів, блідо-рожево-жовтуватого кольору, у вигляді рихлого тяжа, що
 10 слабо галузиться, розсіяна уповдовж шлунково-селезінкової зв'язки. Селезінка повнокровна, червоно-вишневого кольору.

Капсула нирок легко знімається, на розрізі органу чітко видно щільні, зі збереженням малюнком шари. Надниркові залози без особливостей. Зачеревні лімфовузли не збільшені.
 15 Слизова оболонка залізного відділу шлунка з характерним рельєфом складок, нормального кольору, без геморагій, набряку, ерозійних ушкоджень. Слизова оболонка тонкого і товстого кишечника звичайна за кольором, вміст відповідає відділам. Яєчка, придатки яєчок, передміхурова залоза, насінні бульбашки у самців щурів, роги матки і яєчники у самиць щурів без патології. Сечовий міхур невеликий, стінка його тонка.

20 Патоморфологічне дослідження внутрішніх органів щурів

При гістологічному дослідженні встановлено, що печінка щурів через 14 днів після введення розчину ФК і плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг не відрізнялися по структурі від печінки інтактних тварин.

Межа між печінковими часточками змащена, зони порталних трактів (тріад) вузькі,
 25 радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів збережена.

Ознак, характерних для функціональної напруги, активації або пригноблення гепатоцитів - змін розмірів і локалізації ядер, чисельності ядерців в ядрі, стану хроматинової субстанції не виявлено. Популяція двоядерних гепатоцитів, стан мікроциркуляторного русла візуально не змінені, не відмічено підвищення апоптозу, мітотичної активності, активації клітин Купфера.

30 Нирки. За станом ниркових клубочків і системи звитих і прямих канальців у досліджених і контрольних щурів були порівняльні. Ниркові клубочки помірно варіювали за розміром, щільність розташування їх звичайна. Просвіт капсули вільний, ядерна насиченість гломерулярних капілярів, чіткість малюнка капілярної мережі помірна. Епітелій проксимальної і дистальної частини канальців нефронів без змін, рівень розпушеності апікальних відділів клітин порівняльний. Канальці мозкового шару звичайного вигляду.

35 Міокард зберігав звичайну гістологічну структуру. Серцево-м'язові волокна рівномірно забарвлені, досить щільно розташовані. У кардіоміоцитах поперечна покреслена міофібрил, що займають усю вільну від ядра саркоплазму, виражена помірно. Ядра довгасто-округлої форми, нормохромні. Міжпучкові простори невеликі. Судини венозного типу часто повнокровні,
 40 стромальна клітинна реакція не видима.

У респіраторному відділі легень досліджених і контрольних щурів альвеолярний малюнок паренхіми чіткий. Ознак альвеолярного набряку, збільшення клітинної насиченості міжальвеолярних перегородок не відмічено. Лімфоцитарна реакція в стромі альвеолярного дерева у всіх щурів в межах норми. Епітелій бронхів і бронхіол інтактний.

45 Гістологічна структура тимуса у досліджених щурів практично не відрізнялася від такої у контрольних тварин. Часточки добре сформовані, щільність розташування лімфоцитів в корі і медулі нормальна. Тимічні тільця дрібні і нечисленні. У багатьох щурів в обох групах відмічали помірний малюнок "зоряного неба".

У селезінці лімфоїдні вузлики звичайні за розміром і чисельністю, в них чітко видно періартеріальну Т-залежну і маргінальну В-залежну зони, гермінативні центри. У червоній пульпі визначалися численні еритроцити і ядерні форми клітин.

Надниркові залози досліджених щурів зберігали властиву їм гістологічну структуру. Ознак змін гістологічних характеристик, що свідчать про зміну продукції мінерало- і глюкокортикоїдів, порівняно з контрольними мікропрепаратами не відмічено. У мозковому шарі функціональний стан нейроендокриноцитів (хромафінних клітин) помірно варіює у фізіологічно нормальних
 55 межах, синуси повнокровні.

У підшлунковій залозі чітко помітні екзо- і ендокринна частини.

Екскреторні залізисті клітини ацинусів з характерним двузональним забарвленням цитоплазми, співвідношення якої у досліджених і контрольних щурів співпадає. Острівковий

апарат представлений панкреатичними острівцями різного розміру, рівномірно і досить щільно заповненими інсуліноцитами.

У стравоході усіх досліджених щурів структура багат шарового ороговіваючого епітелію не порушена, не виявлені ознаки подразнення в стромі слизової оболонки і в підслизовому шарі.

5 У слизовій оболонці дослідженої області шлунка (зона дна) після введення розчину ФК в дозі 40 мл/кг десквамативні процеси в покривному епітелії відсутні, ямковий епітелій звичайний. Власні залози шлунка прямі, довгі, з типовим розташуванням головних, обкладинових і слизових клітин.

10 У порожній кишці стан ворсинок слизової оболонки звичайний. Епітеліальні клітини, що вистилають ворсинки і кишкові крипти, не змінені, келихоподібні клітини достатні за чисельністю, знаходяться на різній стадії вироблення секрету.

Слизова оболонка прямої кишки в усіх експериментальних щурів вистилає кубічним одношаровим епітелієм з чіткою кутикулярною облямівкою, значним вкращенням келихоподібних клітин. Ядра епітеліальних клітин розташовані на одному рівні, кишкові крипти 15 помірно глибокі, зона мітозів в них обмежена областю дна. Лімфоїдна клітинна насиченість стромы слизової оболонки помірна.

Насінники у усіх самців на момент дослідження без патологічних змін. Стрічка сперматогенного епітелію досить широка, містить 3-5 рядів статевих клітин, які розташовані правильними концентричними шарами, відповідно із стадіями статевого циклу. Простежені усі 20 етапи сперміогенезу і сперматогенезу. Клітини Сертолі і клітини Лейдига візуально не змінені.

У яєчниках самиць щурів дослідженої і контрольних груп чітко були видимі яєчні фолікули різних етапів розвитку, жовті тіла. Видимих на світлооптичному рівні змін в здатності і чисельності яєчних фолікулів і жовтих тіл після введення ФК і його плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг не відмічені.

25 На підставі отриманих макро- і мікроскопічних даних можна зробити висновок, що внутрішньошлункове введення ФК і плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг через 14 днів не призводило до помітних змін в гістологічній структурі вивчених внутрішніх органів щурів у порівнянні з інтактним контролем.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що ФК і плацебо (розчинник) при 30 внутрішньошлунковому введенні в дозі 40 мл/кг лабораторним щурам (самцям і самицям) не викликає загибелі, не впливає на фізіологічні процеси тварин. По класифікації токсичності речовин ФК належить до VI класу токсичності відносно безпечні речовини, LD₅₀ яких більше 15 мл/кг.

Оскільки точне значення LD₅₀ готової лікарської форми ФК встановити не вдалося, визначення параметрів середньо-смертельної дози проводили за вмістом діючих речовин в препараті. Для цього брали ряд доз сухої суміші субстанцій ФК, які вводили тваринам в однаковому об'ємі (100 мл/кг). У зв'язку з великим об'ємом отримані розчини вводили тваринам дробово 5 разів протягом доби в максимально допустимому об'ємі для щурів - за одне введення по 2 мл/ 100 г тварини з перервами між введеннями по 2 години. Через 10-20 хвилин після 40 першого введення досліджуваних доз у тварин спостерігали зниження рухової активності. Друге і третє введення у тварин викликало переповнювання шлунка, фекальні маси м'які, не сформовані, після чого починався пронос і діарея. Четверте і п'яте введення робили посилюючу дію на загальний стан тварин - відкрита форма проносу, діарея, слиз, мокрий і брудний хвіст. Зі збільшенням дози тварини слабшали швидше, спостерігалось посилення виражених токсичних ефектів, що у результаті призводило до загибелі тварин. У самців летальність наставала в 45 діапазоні 30000-60000 мг/кг, у самиць 40000-60000 мг/кг. Смертність у тварин спостерігалася на 1-у добу після введення ФК. Дослідження летальних ефектів сухої суміші субстанцій ФК при внутрішньошлунковому введенні щурам представлено в таблиці 6.

Таблиця 6

№ з/п	Групи тварин	Доза, мг/кг ваги	Розчин, мл/кг ваги	Кількість загиблих тварин/кількість тварин в групі	
				самці	самиці
4.	Суша суміш субстанцій, які входять до складу ФК	15 000	100	0/6	0/6
5.		20 000	100	0/6	0/6
6.		30 000	100	2/6	0/6
7.		35 000	100	-	0/6
8.		40 000	100	5/6	5/6
9.		50 000	100	6/6	6/6
10.		60 000	100	6/6	6/6

5 Подальше спостереження за тваринами, що вижили, виявило поступове відновлення у тварин усіх фізіологічних процесів - на 3-14 добу тварини були активними, мали задовільний апетит, нормально реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовипускання і дефекації були в нормі, порушення дихання і судом не спостерігали.

Результати впливу сухої суміші субстанцій ФК на динаміку маси (г) тіла самців щурів, n=6, M±m представлено в таблиці 7.

Таблиця 7

Термін	Суша суміш субстанцій ФК, мг/кг ваги					
	15 000	20 000	30 000	40 000	50 000	60 000
Самці						
PANOVA	0,2686	0,2326	0,3946	0,2523	-	-
Початковий	196±8	198±7	196±5	193±5	193±7	197±5
3 день	193±4	191±4	185±5	180	-	-
7 день	199±6	194±6	195±10	175	-	-
14 день	214±9	215±13	203±6	210	-	-

Примітка:

1. PANOVA - рівень статистичної значущості в кожній експериментальній групі (одинфакторний дисперсійний аналіз ANOVA)
2. p1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату(критерій Ньюмена-Кейлса)
3. n - кількість тварин в кожній групі.

10 Результати впливу сухої суміші субстанцій ФК на динаміку маси (г) тіла самиць щурів, n=6, M±m представлено в таблиці 8.

Таблиця 8

Термін	Суша суміш субстанцій ФК, мг/кг ваги						
	15 000	20 000	30 000	35 000	40 000	50 000	60 000
PANOVA	0,8629	0,0050	0,3816	0,2465	0,6161	-	-
Початковий	192±4	195±6	196±6	196±8	193±5	193±5	196±6
3 день	188±5	184±5	187±6	191±7	175	-	-
7 день	184±10	196±5	193±6	209±8	190	-	-
14 день	192±9	215±6	203±8	210±8	195	-	-

Примітка:

1. PANOVA - рівень статистичної значущості в кожній експериментальній групі (одинфакторний дисперсійний аналіз ANOVA)
2. p1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату (критерій Ньюмена-Кейлса)
3. n - кількість тварин в кожній групі.

15 Результати дослідження показали, що введення ФК і плацебо (розчинник) в максимальній дозі 40 мл/кг не викликає загибелі тварин, не призводить до статистично значимих змін

відносної маси внутрішніх органів щурів обох статей. Гістологічні дослідження підтверджують відсутність токсичної дії ФК і плацебо на внутрішні органи при введенні ФК в токсичних дозах. При введенні максимальних доз як сухої суміші субстанцій ФК, так і окремих складових субстанцій ФК спостерігалася загибель тварин, що дозволило розрахувати середні летальні дози. Середня летальна доза сухої суміші субстанцій ФК для самців склала 33333 мг/кг, для самок – 38750 мг/кг. Середня летальна доза субстанції аргініну аспартату для самців щурів склала 29792 мг/кг, для самок – 30833 мг/кг, субстанції левокарнітину для самців і самок – 17833 мг/кг.

Введення сухої суміші субстанцій ФК у великих дозах викликало у тварин розлад функції ШКТ, що у свою чергу призводило до обезводнення організму і втрати маси. На третю добу маса тварин знизилася в усіх групах самців і самок в порівнянні з початковою, через 7 днів маса тварин відновлювалася і до кінця терміну спостереження перевищувала початкові значення.

Отримані результати летальностей дозволили розрахувати середні смертельні дози LD₅₀. Для самців LD₅₀ склала 33333 мг/кг, LD₅₀ для самок – 38750 мг/кг.

Таким чином, суміш субстанцій ФК при внутрішньошлунковому введенні лабораторним щурам (самцям і самкам) не викликає загибелі, не впливає на фізіологічні процеси тварин. По класифікації токсичності речовин суміш субстанцій ФК належить до VI класу токсичності - відносно безпечні речовини, LD₅₀ яких більше 15 мг/кг.

Метою наступних досліджень було вивчення можливих токсичних ефектів фармацевтичної композиції, яку вводять у спосіб за технічним рішенням, в умовах повторного введення впродовж 28 днів.

Методи дослідження: загальноклінічні, лабораторні, фізіологічні, біохімічні, патоморфологічні і статистичні.

Об'єктом дослідження була ФК, розчин для орального застосування, 1 мл розчину містить активних речовин: 100 мг левокарнітину і 264 мг аргініну аспартату, допоміжні речовини - кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксibenзоат (E218), пропілпарагідроксibenзоат (E216), вода для ін'єкцій.

Це дослідження проведене з метою виявити фізіологічні і структурні зміни, викликані тривалим введенням ФК, розчину для орального застосування, при внутрішньошлунковому введенні (з вивченням впливу на ШКТ) в дослідах на щурах обох статей і визначити залежність цих змін від дози.

У завдання дослідження входило:

1. Вивчення токсичних ефектів ФК, розчину для орального застосування, в дозах 2 і 20 мл / кг ваги на щурах (самці, самки).

2. Вивчення впливу ФК на стан ШКТ в умовах тривалого введення.

Дослідження проведене відповідно до Методичних рекомендацій по експериментальному (доклінічному) вивченню нових лікарських засобів (2001 р.), Наказу № 944 Державні Експертні центри МЗ України, і відповідає вимогам Good Laboratory Practice (GLP) - Належної лабораторної практики (НЛП).

Досліди по вивченню підгострої токсичності проводили на 48 нелінійних безпородних білих щурах обох статей масою тіла 170-210 г, вік тварин - 3,5-4 міс. Усіх тварин розділили на 4 групи по 12 особин (6 самців, 6 самок).

При експериментальному дослідженні на моделі гострої асфіксії у щурів встановлено, що найбільшу і практично однакову по вираженості активність ФК проявляє в дозах 1 і 2 мл/кг ваги. Для вивчення токсичних ефектів ФК була вибрана доза 2 мл/кг як умовнотерапевтична, визначена в експериментальному дослідженні і близька до дози, перерахованої з дози для людини, і доза 20 мл/кг, яка перевищує умовнотерапевтичну в 10 разів. Згідно з методичними рекомендаціями по вивченню токсичності при повторних введеннях термін введення ФК склав 28 діб (Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів/ В.М.Коваленко, О.В.Стефанов, Ю.М.Максимов, І.М.Трахтенберг// Методичні рекомендації. - Київ, 2000. - 74-97 с.).

Для повнішої оцінки токсичної дії розчину ФК досліди проводили при внутрішньошлунковому введенні. Досліджуваний зразок вводили щурам один раз на добу. Для того, щоб оцінити токсичну дію активних і допоміжних речовин ФК, на окремій групі тварин був вивчений розчинник (плацебо) - група № 2 (6 самців і 6 самок). Дизайн (Розподіл тварин по групах при токсикологічному дослідженні ФК) дослідження представлений в таблиці 9.

Таблиця 9

Експериментальні групи		Доза, мл/кг ваги	Номери тварин	
			самці	самиці
1	Інтактний контроль	-	1-6	7-12
2	Плацебо (розчинник)	20	13-18	19-24
3	Тест-зразок	2	25-30	31-36
4	Тест-зразок	20	37-42	43-48

У цьому експерименті вивчали фізіологічні показники, морфологічні і біохімічні параметри крові, сечі тварин.

5 Фізіологічні методи дослідження включали щоденні спостереження за поведінкою твариною, загальним станом, споживанням їжі і води, реєстрацію маси тіла в динаміці. Стан електрофізіологічної активності міокарда оцінювали методом електрокардіографії, функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) - в тесті "Відкрите поле".

10 Масу тіла тварин оцінювали в динаміці: початкова і через 7, 14, 21 і 28 днів. Вплив досліджуваного об'єкта на стан ЦНС щурів визначали з використанням тесту "Відкрите поле" у кінці терміну введення (28 днів) по руховій (кількість перетинів квадратів), орієнтовно-дослідницький (кількість заглядань в нирки, кількість стойок) і емоційній активності (кількість уринацій, дефекацій, умивань). За інтегральним показником "Сума активностей" оцінювали в цілому вплив на ЦНС.

15 Вивчення впливу ФК на стан серцево-судинної системи (ССС) тварин проводили у кінці терміну введення (28 день) за допомогою електрокардіографа ЕК1Т-03 М2.

20 ЕКГ реєстрували у тварин в II стандартному відведенні. При розшифровці електрокардіограм враховували наступні показники: RR - тривалість повного серцевого циклу; тривалість інтервалу PQ, поширення збудження, що характеризує час, по передсерддю; тривалість шлуночкового комплексу QRS і електричної систоли шлуночків - інтервалу Q-T; вольтаж зубців Р, Т і R; розраховували частоту серцевих скорочень (60/RR, уд/хв, систолічний показник (СП, QT/RR %), що відображає скорочувальну функцію міокарда.

25 У периферичній крові визначали концентрацію гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, підраховували процентне співвідношення різних форм лейкоцитів (паличкоядерні і сегментоядерні нейтрофіли, лімфоцити, еозинофіли, моноцити). Кров у щурів брали з хвостової вени у кінці терміну введення (28 день).

30 Концентрацію гемоглобіну в крові визначали гемоглобінціанідним методом (набір фірми "Филисит-діагностика", Україна), еритроцити визначали колориметричним методом, лейкоцити - в камері Горяєва, лейкоцитарну формулу підраховували за допомогою лічильника формених елементів СЛ-01 загальноприйнятим методом (Лабораторні дослідження в клініці / під ред. В.В. Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 365 с.).

35 Вплив досліджуваного засобу на функціональний стан печінки оцінювали по ряду біохімічних показників крові. За допомогою наборів "PLIVA-Lachema Diagnostica sro" (Чехія) вимірювали активність аланін- і аспартатамінотрансферази (АЛТ і АСТ) - ферментативно-фотометричним методом в реакції з 2,4-динітрофенілгідразиним; холестерин, ЛПВЩ і ЛПНЩ - ферментативним методом (Biosystems, Іспанія). За допомогою наборів "Филисит-діагностика" (Україна) визначали рівень глюкози глюкозооксидазним методом, загального білка - біуретовим методом, концентрацію креатиніну - по реакції з пікриновою кислотою (метод ґрунтований на реакції Яффі); концентрацію сечовини - уреазним методом (Biosystems, Іспанія), хлоридів - фотометричним методом за допомогою набору фірми "Филисит-діагностика" (Україна).

40 Здатність крові згущуватися визначали методом Альтгаузена. Відомо, що час згортання крові залежить від зміщень протромбінового часу, вмісту іонів кальцію, фібриногену, коливань фібринолітичної активності, структурно-функціональних особливостей ряду інших чинників про-і антикоагулянтної дії, а також формених елементів крові.

45 Тому в плазмі крові визначали протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), активний частковий тромбіновий час (АЧТЧ) на коагулографі за допомогою наборів фірми РЕНАМ (Росія). Концентрацію фібриногену визначали методом Рутберга.

50 Для оцінки секреторної функції каналців нирок використали 2,5 % навантаження водою. Після внутрішньошлункового введення води (2,5 мл / 100 г маси) щурів поміщали на 3 години в індивідуальні клітки для збору сечі.

Кількість сечі (мл), що виділилася, розраховували на 100 г маси тварин за 1 годину. Визначали концентрацію сечовини, креатиніну і хлоридів в перерахунку на об'єм зібраної сечі

(мкмоль/3 години). Реакцію сечі (pH) визначали за допомогою діагностичних смужок ("PLIVA-Lachema Diagnostica sro", Чехія), щільність сечі - ваговим методом.

Тварин виводили з експерименту під легенею хлороформним наркозом, розтинали і оцінювали макроскопічний стан внутрішніх органів і систем (серце, легені, печінка, нирки, селезінка, надниркові залози, яєчка, тимус, насінники/яєчники, стравохід, шлунок, товста і пряма кишка). Визначали абсолютну масу внутрішніх органів (серце, легені, печінка, нирки, селезінка, надниркові залози, яєчка, тимус, насінники) для обчислення коефіцієнтів маси (KM) за формулою(1):

$$KM_{\text{органа}} = \frac{m_{\text{органа}}}{M_{\text{тварини}}} \times 100\% \quad (1).$$

Зразки тканин серця, тимуса, легенів, печінки, селезінки, нирок, надниркових залоз, підшлункової залози, насінників/яєчників піддавали гістологічному дослідженню. Також було вивчено вплив ТЗ на слизову оболонку ШКТ (стравохід, шлунок, товста і пряма кишка). Як норму розглядали аналогічні органи тварин з групи інтактного контролю.

Зразки тканин фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну і заливали в целоїдин-парафін. Гістологічні препарати забарвлювали гематоксиліном і еозином, огляд проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень проводили за допомогою цифрового фотоапарата Nikon Col Pix 4500. Фотографії обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою Nikon View 5.

Для реєстрованих змінних приводили описову статистику: для кількісних показників - розмір вибірки (n), середнє арифметичне, стандартна помилка (m); для змінних, які не підлягають закону нормального розподілу, - розмір вибірки (n), середнє арифметичне, мінімальне (Min) і максимальне значення (Max); для якісних показників - частоту і частку у відсотках. Для кількісних показників проводили перевірку гіпотези про нормальний розподіл даних в групах за допомогою тесту Левен. Якщо дані в групах за певними показниками були розподілені нормально, то досліджені групи порівнювали з контрольною за цими показниками за допомогою критерію Ньюмена-Кейлса ($p < 0,050$) для незалежних вибірок. У разі ненормального розподілу використали критерій Крускала-Волліса (аналог дисперсійного аналізу для непараметричних даних) і критерій Манна-Уїтні з поправкою Бонферроні ($p < 0,00167$).

Після введення досліджуваної композиції тварини знаходилися під постійним наглядом експериментатора. У тварин ознак інтоксикації не відмічали. Вони були активними, без ознак агресії, характер і поведінка індивідуальні для кожної тварини. Процеси дефекації і сечовипускання були в нормі. Тварини підходили до їжі, приймали її охоче.

При пальпації у всіх досліджених тварин новоутворень не виявлено. Регіональні лімфовузли не збільшені, яєчка розташовані в мошонці, рухливі, розмір мошонки обмежений розміром яєчок. Загибелі тварин не було відмічено. Вживаність лабораторних щурів після внутрішньошлункового введення ФК наведено у таблиці 10.

Таблиця 10

Експериментальні групи		Доза, мл/кг	Викликаний ефект, загиблі тварини/кількість тварин	
			самці	самиці
1	Інтактний контроль	-	0/6	0/6
2	Плацебо (розчинник)	20	0/6	0/6
3	Розчин ФК	2	0/6	0/6
4	Розчин ФК	20	0/6	0/6

Важливим показником токсичної дії композиції є маса тіла тварин. Після 28 днів спостереження в групі самців, яким вводили розчин ФК в різних дозах, відмічений приріст маси тіла щурів відносно початкової на 19 %, в інтактній групі - 23 %, в групі ПК - на 24 %. Статистично значимі відмінності з групою ІК відсутні.

У групах самиць, яким вводили розчин ФК в дозах 2 і 20 мл/кг також відмічений приріст маси тіла відносно початковою на 14 % і 12 % відповідно, в інтактній групі - 15 %, в групі ПК - на 12 %.

Статистичний аналіз також не виявив достовірних відмінностей з групою ІК. Вплив ФК при внутрішньошлунковому введенні на масу тіла (г) щурів ($M \pm m$) наведений у таблиці 11.

Таблиця 11

Терміни дослідження	PANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) р 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
1	2	3	4	5	6
Самці					
Рдинамика		0,0004	0,0058	0,0095	0,0063
Початковий стан	PANOVA=0,9942	184±6	185±8	187±7	186±7
1	2	3	4	5	6
7 днів	PANOVA=0,9904	193±5 p1NK=0,3582	195±7 p1NK=0,4157	193±7 p1NK=0,5841	193±7 p1NK=0,4806
14 днів	PANOVA=0,6827	200±5 p1NK=0,1972	212±9 p1NK=0,0894	205±8 p1NK=0,2093	202±7 p1NK=0,2246
21 день	PANOVA=0,7732	215±6 p1NK=0,0099	223±9 p1NK=0,0228	217±8 p1NK=0,0401	212±6 p1NK=0,0474
28 днів	PANOVA=0,8867	227±9 p1NK=0,0007	229±10 p1NK=0,0097	223±8 p1NK=0,0173	221±6 p1NK=0,0075
Самиці					
Рдинаміка		0,0041	0,0027	0,0242	0,0001
Початковий стан	PANOVA=0,9905	193±4	191±4	192±5	191±3
7 днів	PANOVA=0,8487	201±5 p1NK=0,2394	197±4 p1NK=0,3087	198±5 p1NK=0,5058	196±3 p1NK=0,1870
14 днів	PANOVA=0,9797	206±5 p1NK=0,1516	205±4 p1NK=0,0467	204±6 p1NK=0,3330	203±2 p1NK=0,0064
21 день	PANOVA=0,9247	213±6 p1NK=0,0280	211±5 p1NK=0,0078	213±7 p1NK=0,0831	209±2 p1NK=0,0004
28 днів	PANOVA=0,5777	221±5 p1NK=0,0033	213±4 p1NK=0,0059	219±7 p1NK=0,0290	214±2 p1NK=0,0001

Примітка:

1. PANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA)
2. Рдинамика - рівень статистичної значущості відмінностей усередині експериментальної групи в динаміці (дисперсійний аналіз ANOVA)
3. p1NK - рівень статистичної значущості відмінностей при порівнянні з початковими показниками (критерій Ньюмана-Кейлса)
4. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, у тварин усіх експериментальних груп спостерігали позитивну динаміку приросту маси тіла. Статистично достовірні відхилення від відповідних показників інтактного і негативного контролю були відсутні як у самців, так і у самиць.

У таблиці 12 представлені дані про вплив досліджуваної композиції і її розчинника на функціональний стан ЦНС щурів.

При порівнянні поведінкових реакцій досліджуваних груп самців (таблиця 12) з показниками відповідних груп ІК через 28 діб введення ТЗ в різних дозах відмінності не мали достовірного характеру.

Таблиця 12

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Кількість перетинів	0,9560	11,50 (021)	9,17 (017)	7,50 (012)	8,50 (016)
Кількість вертикальних стойок	0,2581	1,17 (02)	1,50 (04)	1,17 (03)	0,33 (01)
Кількість обстежених отворів	0,2746	7,33 (011)	5,67 (09)	4,16 (08)	6,67 (010)
Кількість дефекації	0,0334	1,33 (03)	0,33 (0 ¹) P ^{2M-U} =0,2403	2,33 (1 ⁴) P ^{2M-U} =0,2403	0,67 (02) P ^{2M-U} =0,3939
Кількість уринацій	0,0521	0,33 (02)	0,17 (01)	1,17 (03)	0,00 (00)
Кількість умивань	0,5538	0,00 (00)	0,17 (01)	0,17 (01)	0,00 (00)
Сума показників емоційної активності	0,0069	1,67 (03)	0,67 (02) P ^{2MU} =0,3095	3,67 (06) P ^{2M-U} =0,0649	0,67 (02) P ^{2M-U} =0,2403
Сума усіх активностей	0,7599	21,67 (11 ³²)	17,00 (030)	16,50 (027)	16,17 (025)

Примітка:

1. pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);
2. p^{2M-U} - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні p<0,00167);
3. n - кількість тварин в групі.

Результати дії ФК на функціональний стан ЦНС самиць щурів при тривалому введенні приведено в таблиці 13. Відповідно до отриманих даних, у самиць під дією ТЗ впродовж 28 днів в дозі 2 і 20 мл/кг спостерігали статистично значиме зменшення кількості вертикальних стойок і незначне зниження кількості обстежених нірок. Отримані дані свідчать про деяке зниження дослідницької активності у групі ФК. Найбільш виражена зміна були зафіксовані в групі тварин, яким вводили ФК в дозі 20 мг/кг ваги. Вплив розчину ФК на показники функціонального стану ЦНС щурів самиць М (M_{min}÷M_{max}), n=6 наведено у таблиці 13. Проте, на суму активності виявлені зміни не вплинули, що дозволяє зробити висновок про відсутність токсичної дії ФК на самиць щурів.

Таблиця 13

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Кількість перетинів	0,4236	18,67 (11-24)	15,50 (6-31)	12,50 (5-23)	12,83 (5-24)
Кількість вертикальних стойок	0,0354	5,50 (2-8)	3,17 (1-7) p ^{2M-i} =0,0931	2,67 (0-5) p ^{2Mи} =0,0649	1,33 (0-5) p ^{2Mи} =0,0152
Кількість обстежених отворів	0,0771	8,33 (2-18)	5,83 (3-8)	6,17 (3-11)	3,17 (0-7)
Кількість дефекації	0,3184	1,17 (0-3)	2,17 (0-6)	1,33 (0-4)	3,33 (0-6)
Кількість уринацій	0,4224	0,83 (0-2)	0,33 (0-1)	0,17 (0-1)	0,83 (0-2)
Кількість умивань	0,4329	0,00 (0-0)	0,17 (0-1)	0,33 (0-1)	0,50 (0-2)
Сума показників емоціональної активності	0,2608	2,00 (0-4)	2,67 (0-7)	1,83 (0-4)	4,67 (0-7)
Сума усіх активностей	0,2124	34,50 (29-42)	27,17 (15-45)	23,17 (15-37)	22,00 (13-37)

Примітка:

1. рK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);
2. р2M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні $p < 0,00167$);
3. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, внутрішньошлункове введення ФК і її розчинника впродовж 28 днів не чинило нейротоксичної дії на самців і самиць щурів.

5 Результати вивчення впливу розчину ФК на гематологічні показники представлені в Таблицях 14 і 15.

З даних, приведених в Таблиці 16, видно, що в усіх досліджених групах щурів самців введення розчину ФК в двох дозах і її розчинника викликало помірне тривале збільшення кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну в порівнянні з групою ІК, проте показники не виходили за межі фізіологічної норми. Це може свідчити про еритропоетичну дію ФК.

10 Лейкоцитарна формула у піддослідних тварин не відрізнялася від такої в групі ІК. Патологічних зрушень не відмічено. Вплив ФК на гематологічні показники у щурів самців, ($M \pm m$), $M (M_{\min} - M_{\max})$, $n=6$ наведено у таблиці 14.

Таблиця 14

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Гемоглобін, г/л	pK-U=0,0020	137,30±3,35	148,52±2,23 PiM ^u =0,0260	154,38±1,51 PiM ^u =0,0022	145,10±0,88 PiM ^u =0,2403
Еритроцити, 10 ¹² / л	pK-U=0,0023	4,96±0,02	5,27±0,04 PiM ^u =0,0029	5,22±0,05 PiM ^u =0,0078	5,08±0,08 PiM ^u =0,1307
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	0,2306	17,50±1,28	15,92±1,34	19,63±1,54	19,29±1,33
Лейкоцитарна формула %					
Нейтрофіли паличкоядерні	pK-U=0,9164	0,33 (0-1)	0,50 (0-1)	0,33 (0-1)	0,33 (0-1)
Нейтрофіли сегментоядерні	pK-U=0,9073	10,83 (8-13)	12,17 (7-21)	13,33 (8-23)	13,00 (8-20)
Еозинофіли	pK-U=0,4854	2,50 (0-6)	2,83(1-5)	3,67 (2-6)	2,83 (0-7)
Лімфоцити	pK-U=0,8119	83,83 (79-89)	82,00 (74-87)	80,50 (69-86)	82,67 (72-89)
Моноцити	pK-U=0,8377	2,50 (1-4)	2,50 (1-5)	2,17 (1-4)	1,67 (0-3)

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
2. р1M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна- Уїтні $p < 0,00167$);
3. n - кількість тварин в групі. Вплив ФК на гематологічні показники у щурів самиць, ($M \pm m$), $M (M_{\min} - M_{\max})$, $n=6$ наведено у таблиці 15.

15

Таблиця 15

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Гемоглобін, г/л	PANOVA= 0,9807	133,54±3,91	133,37±3,64	131,76±2,04	132,81±3,31
Еритроцити, 10 ¹² /л	PANOVA=0,1906	5,11±0,03	5,23±0,03	5,20±0,06	5,24±0,06
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	PANOVA=0,6366	16,83±1,22	17,54±0,85	16,04±2,21	18,63±1,10
Лейкоцитарна формула %					

Таблиця 15

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Нейтрофіли паличкоядерні	pK-U=0,6426	0,17 (0=1)	0,33 (0=1)	0,67 (0=2)	0,50 (0=2)
Нейтрофіли сегментно-ядерні	pK-U=0,1094	11,00 (7=16)	10,00 (6=12)	10,33 (7=14)	13,67 (10=16)
Еозинофіли	pK-U=0,3408	1,33 (0=4)	3,00(1=6)	3,00 (1=6)	2,00 (0=3)
Лімфоцити	pK-U=0,4163	85,17 (78=89)	84,50 (80=88)	83,50 (77=91)	81,67 (79=87)
Моноцити	pK-U=0,9746	2,33 (1=3)	2,17 (0=4)	2,50 (1=4)	2,17 (0=3)

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)
2. n - кількість тварин в групі.

З даних, приведених в таблиці 15, видно, що у самиць усіх досліджених груп статистично значимих змін кількості еритроцитів, лейкоцитів, а також вмісту гемоглобіну відносно контрольних показників не встановлено. Лейкоцитарна формула у піддослідних тварин не відрізнялася від такої в групі ІК. Патологічних зрушень не відмічено.

Визначення потенційної гепатотоксичності досліджуваних об'єктів в дозах 2 і 20 мг/кг впродовж тривалого введення здійснювали по загальноприйнятому спектру показників, які широко застосовуються в лабораторній практиці і дають можливість скласти уявлення про стан відносно обміну білків, ліпідів, вуглеводів, системи гемостазу, синтетичної функції печінки, а також оцінити специфічний ензимологічний спектр.

Результати досліджень, приведені в таблицях 16 і 17, свідчать про відсутність негативного впливу ФК і плацебо на показники функціонального стану печінки.

Рівень загального білка в сироватці крові впродовж експерименту не змінювався ні у самців, ні у самиць, що свідчить про відсутність негативного впливу ТЗ на білоксинтетичні процеси в печінці. Про збереження на фізіологічному рівні цілісності гепатоцитів свідчать нормальні рівні амінотрансфераз. Вплив ФК на біохімічні показники сироватки крові щурів самців, (M±m), n=6 наведено у таблиці 16.

Таблиця 16

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Загальний білок, г/л	pK-U=0,1033	69,14±1,54	69,92±1,59	68,75±3,34	74,74±0,91
АСТ мккат/л	PANOVA=0,7692	0,64±0,02	0,66±0,02	0,65±0,03	0,63±0,02
АЛТ, мккат/л	PANOVA=0,2799	0,35±0,02	0,35±0,02	0,42±0,04	0,37±0,02

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
2. n - кількість тварин в групі.

Вплив ФК на біохімічні показники сироватки крові щурів самиць, (M±m), n=6 наведений у таблиці 17.

Таблиця 17

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Загальний білок, г/л	PANOVA=0,1005	72,72±1,54	70,63±1,36	74,22±0,56	74,67±1,51
АСТ, мккат/л	pK-U=0,8435	0,62±0,02	0,61±0,02	0,60±0,00	0,61±0,02
АЛТ, мккат/л	PANOVA=0,8495	0,27±0,02	0,29±0,02	0,28±0,03	0,30±0,02

Примітка:

1. PANOVA/pK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами(дисперсійний аналіз PANOVA або критерій Крускала-Волліса)

2. n - кількість тварин в кожній групі.

Для поглибленої характеристики стану загальнотрофічних процесів досліджували показники гемостазу за допомогою загальних (час згортання) і специфічних методів (АЧТЧ), протромбіновий час, тромбіновий час, фібриноген), які дають диференціальну картину можливих змін в системі гемостазу при тривалому застосуванні ФК, що дозволяє припустити тенденцію до гіпер- або гіпокоагуляції в цілому.

Результати приведені в таблицях 18 і 19.

Встановлено, що тривале введення розчину ФК в різних дозах не впливає на час згортання і АЧТЧ у самців і самок. Для виявлення порушень активності факторів згортання і для оцінки функції печінки були вивчені протромбіновий і тромбіновий час. Вони залишалися в межах фізіологічної норми як у самців, так і у самок, що свідчить про відсутність впливу на активність тромбіну. Рівень фібриногену в плазмі крові коливався в рамках фізіологічних значень як у самців, так і у самок. Вплив лікарського засобу ФК на показники гемостазу у щурів самців, (M±m), n=6 наведений у таблиці 18.

Таблиця 18

Показники	PANOVA	Інтактний Контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Час згортання, с	PANOVA=0,1016	154,67±17,52	96,17±14,69	118,33±18,78	87,83±25,17
АЧТЧ, с	PANOVA=0,0748	18,20±1,18	20,82±0,56	22,60±1,55	21,20±0,96
Протромбіновий час, с	PANOVA=0,6034	16,10±0,37	16,53±0,90	17,35±0,62	16,53±0,64
Тромбіновий час, с	PANOVA=0,0927	23,18±0,71	25,97±1,47	21,75±3,38	29,03±1,67
Фібриноген, г/л	PANOVA=0,5593	2,26±0,40	2,29±0,57	1,78±0,15	1,67±0,30

Примітка:

1. PANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз PANOVA)

2. n - кількість тварин в групі.

Вплив ФК на показники гемостазу у щурів самиць, (M±m), n=6 наведений у таблиці 19.

Таблиця 19

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Час згортання, з	PANOVA=0,4256	110,33±12,75	139,00±8,59	116,00±18,31	112,33±12,36
АЧТВ, з	pK-U=0,1808	21,55±1,27	22,63±1,96	24,12±2,12	25,73±0,33
Протромбіновий час, з	PANOVA=0,0109	14,15±0,41	15,23±0,70 p2NK=0,2808	12,18±0,90 p2NK=0,0579	15,54±0,67 p2NK=0,3479

Таблиця 19

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Тромбіновий час, з	PANOVA=0,1848	25,88±1,63	29,02±2,79	33,50±4,39	33,76±1,65
Фібриноген, г/л	PANOVA=0,5601	2,11±0,22	1,67±0,20	1,74±0,27	1,74±0,25

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)
2. p2NK - рівень статистичної значущості відмінностей при порівнянні з групою ІК (критерій Ньюмана-Кейлса)
3. n - кількість тварин в групі.

5 Згідно з отриманими результатами (таблиця.18 і 19), у тварин, яким внутрішньошлунково вводили розчин ФК в дозах 2 і 20 мл/кг і плацебо впродовж 28 днів, змін з боку показників гемостазу не виявлено. Усі вивчені показники (час згортання, АЧТЧ, протромбіновий і тромбіновий час, фібриноген) у самців і самиць знаходилися в інтервалі значень груп інтактного контролю.

Таким чином, можна зробити висновок, що щоденне внутрішньошлункове введення ФК і плацебо не викликає порушень в системі згортання.

10 У таблицях 20 і 21 приведені результати аналізу показників вуглеводного і ліпідного обмінів, які також характеризують функціональний стан печінки. За вмістом глюкози в крові робили орієнтовний висновок про стан процесів, задіяних в метаболізмі вуглеводів, стан ліпідного обміну оцінювали за вмістом загального холестерину, ЛПВЩ і ЛПНЩ.

Вплив ФК на біохімічні показники ліпідного і вуглеводного обмінів щурів самців в сироватці крові, n=6 (M±m) наведений у таблиці 20.

Таблиця 20

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Глюкоза, ммоль/л	PANOVA=0,1'761	4,34±0,32	4,32±0,08	4,74±0,19	4,01±0,23
Холестерин, ммоль/л	PANOVA=0,6958	2,69±0,12	2,54±0,14	2,72±0,11	2,84±0,29
ЛПВЩ, ммоль/л	pK-U=0,4295	1,29±0,02	1,18±0,06	1,28±0,10	1,24±0,14
ЛПНЩ, ммоль/л	PANOVA=0,8046	0,63±0,17	0,55±0,15	0,56±0,05	0,75±0,21

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)
2. n - кількість тварин в групі.

20 Аналіз даних (таблиця. 20 і 21) свідчить, що у щурів самців і самиць тривале введення розчину ФК в обох дозах і плацебо не викликає змін вказаних показників ліпідного і вуглеводного обмінів. Значення знаходилися у рамках меж показників групи ІК. Вплив ФК на біохімічні показники ліпідного і вуглеводного обмінів щурів самиць в сироватці крові (M±m), n=6 наведений у таблиці 21.

Таблиця 21

Показники	PANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Глюкоза, ммоль/л	PANOVA=0,2861	5,69±0,26	5,68±0,22	5,93±0,29	5,14±0,37
Холестерин, ммоль/л	PANOVA=0,5209	2,87±0,28	2,46±0,29	2,81±0,18	2,42±0,30

Таблиця 21

Показники	PANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
ЛПВЩ, ммоль/л	PANOVA=0,7233	1,42±0,09	1,28±0,12	1,38±0,02	1,31±0,12
ЛПНЩ, ммоль/л	PANOVA=0,2761	0,83±0,25	0,51±0,14	0,60±0,13	0,35±0,13

Примітка:

1. PANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз PANOVA)
2. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, досліджувана ФК і плацебо при внутрішньошлунковому застосуванні не роблять токсичного впливу на обмін речовин у щурів.

Результати вивчення функціональної активності нирок на тлі введення досліджуваних об'єктів, представлені в таблицях 22 і 23.

Згідно з отриманими результатами, внутрішньошлункове введення розчину ФК і плацебо щурам (самцям і самицям) впродовж 28 днів не робило істотного впливу на видільну функцію нирок. Усі вивчені показники не відрізнялися достовірно від таких відповідних контрольних груп.

Вплив ФК на показники функціонального стану нирок у щурів самців ($M \pm m$), $n=6$ наведений у таблиці 22.

Таблиця 22

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Діурез, мл/100 г	PANOVA=0,6175	2,21±0,16	2,42±0,42	2,12±0,23	2,60±0,25
pH сечі	PANOVA=0,0678	6,33±0,21	7,00±0,25	7,33±0,21	6,67±0,33
Щільність сечі, мг/мл	PANOVA=0,2615	1,012±0,002	1,014±0,001	1,010±0,002	1,010±0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/3 години	PK ^U =0,8414	5,42±1,02	4,95±0,37	4,39±0,73	4,58±0,42
Креатинін в сироватці, ммоль/л	PANOVA=0,1172	0,124±0,007	0,127±0,004	0,134±0,002	0,117±0,003
Екскреція сечовини, мкмоль/3 години	PANOVA=0,3605	154,18±19,64	210,33±20,95	215,26±40,74	170,27±26,42
Сечовина в сироватці, ммоль/л	PK ^U =0,2145	6,10±0,32	6,90±0,44	7,45±0,70	7,49±0,47
Екскреція хлоридів, мкмоль/3 години	PANOVA=0,4777	10,33±2,48	9,18±2,72	10,37±1,93	14,13±2,09
Хлориди в сироватці, ммоль/л	PANOVA=0,6489	100,4±2,13	103,9±2,68	100,6±2,12	101,6±1,57

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
2. n - кількість тварин в групі.

Вплив ФК на показники функціонального стану нирок у щурів самиць ($M \pm m$), $n=6$ наведений у таблиці 23.

15

Таблиця 23

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин "Тиворель", 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Діурез, мл/100г	PANOVA=0,8514	1,40±0,19	1,60±0,17	1,48±0,26	1,62±0,19
pH сечі	PANOVA=0,5139	6,67±0,33	7,17±0,31	6,67±0,21	7,00±0,26
Щільність сечі, мг/мл	pK-U=0,3267	1,021±0,003	1,016±0,004	1,017±0,001	1,015±0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/3 години	PANOVA=0,5677	3,02±0,44	2,27±0,61	3,09±0,89	2,03±0,50
Креатинін в сироватці, ммоль/л	PANOVA=0,1507	0,125±0,007	0,125±0,003	0,136±0,007	0,114±0,007
Екскреція сечовини, мкмоль/3 години	PANOVA=0,0628	276,51±49,37	135,03±21,09	220,85±32,14	186,33±32,17
Сечовина в сироватці, ммоль/л	PANOVA=0,0594	5,09±0,345	5,26±0,37	6,40±0,47	6,42±0,47
Екскреція хлоридів, мкмоль/3 години	PANOVA=0,9762	9,13±1,97	8,34±2,68	7,39±2,80	8,66±2,44
Хлориди в сироватці, ммоль/л	PANOVA=0,1740	96,90±0,88	99,01±1,15	96,67±1,15	99,06±0,56

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Круска-Ла-Волліса)
2. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, наведені в таблицях 22 і 23 дані свідчать, що ФК і плацебо при тривалому введенні (28 днів) не роблять нефротоксичної дії.

- 5 Дані про вплив розчину ФК на ЧСС і параметри ЕКГ представлені в таблицях 24 і 25. У всіх тварин зберігався правильний синусовий ритм - в II стандартному відведенні постійно був присутнім позитивний зубець Р перед характерним шлуночковим комплексом QRS.

- 10 Введення ФК і плацебо впродовж 28 днів самцям щурів не призводило до значних зрушень показників, що характеризують електрофізіологічну активність міокарду. Вплив ФК на показники ЕКГ у щурів самців, (M±m), n=6 наведений у таблиці 24.

Таблиця 24

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
ЧСС, уд/хв	PANOVA=0,3261	383,17± 17,24	426,17±14,01	422,00± 26,71	397,67± 12,22
СП %	pK-U=0,8291	42,83±1,94	44,83±1,38	47,17±4,02	44,33±2,12
PQ, с	PANOVA=0,5516	0,045±0,001	0,044±0,001	0,043±0,001	0,044±0,001
QRS, с	PANOVA=0,4343	0,013±0,001	0,013±0,001	0,014±0,001	0,014±0,001
QT, с	PANOVA=0,3680	0,07±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,07±0,00
R, мВ	PANOVA=0,7239	0,47±0,06	0,50±0,05	0,43±0,07	0,53±0,08
P, мВ	pK-U=0,3817	0,08±0,01	0,08±0,01	0,06±0,00	0,08±0,01
T, мВ	PANOVA=0,5128	0,16±0,02	0,16±0,02	0,13±0,02	0,13±0,01

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Круска-Ла-Волліса)
2. n - кількість тварин в групі.

Внутрішньошлункове введення розчину ФК і плацебо впродовж 28 днів самицям щурів також не призводило до зрушень показників, що характеризують електрофізіологічну активність міокарда.

5 Вплив ФК на показники ЕКГ у щурів самиць, ($M \pm m$), $n=6$ наведено у таблиці 25.

Таблиця 25

Показники	PANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
ЧСС, уд/хв	PANOVA=0,2134	453,33±16,80	458,83±16,08	452,50±13,95	413,67±18,01
СП %	PANOVA=0,3048	45,33±1,67	45,83±1,6	46,50±2,03	42,33±1,02
PQ, с	PANOVA=0,6972	0,043±0,001	0,043±0,001	0,044±0,001	0,044±0,001
QRS, с	PANOVA=0,8937	0,015±0,001	0,015±0,001	0,015±0,000	0,014±0,001
QT, с	pK-U=0,4774	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00
R, мВ	PANOVA=0,2486	0,63±0,03	0,54±0,08	0,54±0,06	0,67±0,03
P, мВ	PANOVA=0,7458	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,07±0,01
T, мВ	PANOVA=0,6476	0,13±0,02	0,15±0,02	0,14±0,02	0,17±0,02

Примітка:

1. PANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз PANOVA або критерій Крускала- Волліса)

2. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна зробити висновок, що розчин ФК при внутрішньошлунковому введенні впродовж 28 днів не викликає істотних змін ЕКГ ні у самців, ні у самиць.

Розтин тварин показав, що розміщення органів в черевній і грудній порожнині анатомічно правильне. Зовнішній вигляд шерстного покриву, слизової оболонки природних отворів щурів усіх досліджених груп (інтактний контроль, негативний контроль (плацебо) 20 мл/кг, ФК 2 мл/кг і 20 мл/кг) були однакові.

Регіональні лімфовузли не збільшені. При ревізії порожнин тіла не виявлено патологічного вмісту, спайок. Колір, консистенція органів і тканин, стан серозних оболонок відповідає нормальному, не знайдено ознак гіпо- або гіпертрофії органів, порушень кровообігу, запалення, пухлинного зростання.

Для розрахунку коефіцієнтів маси визначали абсолютну масу внутрішніх органів. Вплив розчину ФК на коефіцієнти маси внутрішніх органів у щурів самців і самиць $M(M_{min} \div M_{max})$, $n=6$ та результати представлені в таблиці 26.

Таблиця 26

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Самці					
Печінка	pK-U=0,0644	2,83(2,70 [^] 2,93)	2,67(2,51 [^] 2,91)	2,58(2,38 [^] 2,77)	2,64(2,40 [^] 2,92)
Нирки	pK-U=0,5492	0,68(0,60 [^] 0,74)	0,68(0,64 [^] 0,73)	0,67(0,62 [^] 0,74)	0,66(0,62 [^] 0,74)
Серце	pK-U=0,0294	0,35(0,32 [^] 0,39)	0,35(0,33 [^] 0,39) p2M-U=1,0628	0,31(0,30 [^] 0,32) p2M-U=0,0694	0,33(0,30 [^] 0,37) p2M-U=0,4849
Легені	pK-U=0,4961	0,60(0,55 [^] 0,65)	0,62(0,57 [^] 0,65)	0,67(0,57 [^] 0,89)	0,60(0,50 [^] 0,70)
Селезінка	pK-U=0,4974	0,44(0,34 [^] 0,55)	0,37(0,30 [^] 0,42)	0,40(0,30 [^] 0,50)	0,38(0,34 [^] 0,44)
Наднирники	pK-U=0,9006	0,024(0,02 [^] 0,03)	0,03(0,02 [^] 0,03)	0,02(0,02 [^] 0,03)	0,03(0,02 [^] 0,04)
Тимус	pK-U=0,2909	0,12(0,06 [^] 0,14)	0,09(0,06 [^] 0,12)	0,09(0,05 [^] 0,11)	0,10(0,09 [^] 0,14)
Насінники	pK-U=0,7418	1,21(1,06 [^] 1,40)	1,16(1,07 [^] 1,30)	1,23(1,12 [^] 1,33)	1,23(1,09 [^] 1,40)
Самиці					
Печінка	pK-U=0,0342	2,91(2,74 [^] 3,19)	3,40(2,82 [^] 4,46)	3,06(2,88 [^] 3,31)	3,30(3,16 [^] 3,56)

Таблиця 26

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
			P2=0,0649	P2=0,1797	P2=0,0043
Нирки	pK-U=0,0049	0,66(0,65 [^] 0,67)	0,70(0,68 [^] 0,73) P2=0,0022	0,65(0,62 [^] 0,71) P2=0,3939	0,71(0,66 [^] 0,78) P2=0,0043
Серце	pK-U=0,1427	0,34(0,32 [^] 0,38)	0,33(0,31 [^] 0,37)	0,36(0,32 [^] 0,40)	0,36(0,33 [^] 0,38)
Легені	pK-U=0,2427	0,88(0,77 [^] 1,22)	0,73(0,66 [^] 0,86)	0,81(0,62 [^] 1,36)	0,82(0,63 [^] 0,99)
Селезінка	pK-U=0,8431	0,44(0,28 [^] 0,60)	0,44(0,32 [^] 0,53)	0,43(0,33 [^] 0,57)	0,40(0,29 [^] 0,49)
Наднирники	pK-U=0,3568	0,04(0,04 [^] 0,05)	0,04(0,03 [^] 0,05)	0,04(0,03 [^] 0,05)	0,04(0,04 [^] 0,04)
Тимус	pK-U=0,9361	0,13(0,07 [^] 0,17)	0,13(0,09 [^] 0,18)	0,14(0,08 [^] 0,24)	0,13(0,10 [^] 0,20)

Примітка:

1. pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);
2. p2M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні);
3. n - кількість тварин в групі.

Встановлено, що внутрішньошлункове введення досліджуваних об'єктів впродовж 28 днів щурам самцям не викликало статистично значимих змін КМ в порівнянні з показниками групи ІК у щурів самців.

5 Проте у самиць спостерігали підвищення КМ печінки і нирок в групах ІК і тваринах, яким вводили ФК в дозі 20 мг/кг

Мікроскопічне дослідження внутрішніх органів усіх щурів, що отримували ФК в різних дозах, показало, що вони мали звичайну будову і не відрізнялися від таких у тварин груп негативного і інтактного контролю.

10 У міокарді лівого і правого шлуночків серця не відмічено явищ набряку або гіперемії. І у контрольних, і в експериментальних групах у окремих щурів зустрічалися одиничні дрібні осередкові лімфомакрофагальні інфільтрати, розташовані між кардіоміоцитами. Кардіоміоцити мали звичайні розміри і забарвлення цитоплазми і ядер, в них добре простежувалася поперечна покреслена міофібрил.

15 У легенях контрольних щурів спостерігалися помірна гіперемія судин і капілярів, осередковий дистелектаз (частковий спад стінок альвеол при розтині грудної порожнини) і вогнища емфіземоподібного розтягування альвеол (агонального походження). Відзначалася помірна активність лімфоїдної тканини, що асоціюється з бронхами. Просвіти альвеол легенів вільні. Введення ФК в дозах 2 мл/кг і 20 мл/кг не робили істотного впливу на структуру органу: 20 були відсутні ознаки посилення гіперемії, дистрофічні зміни пневмоцитів 1-го і 2-го порядків, некробіотичні зміни в клітинах, запальна реакція стромі, посилення активності перибронхіальної лімфоїдної тканини.

У нирках щурів групи негативного контролю і груп, що отримували ФК в різних дозах, як і у щурів групи ІК, були відсутні ознаки порушень в системі кровообігу, дистрофічні і некробіотичні зміни нефротелію канальцевого відділу нефрону, ознаки проміжного запалення. Клубочки нефрону мають звичайну будову і клітинність, капіляри помірно повнокровні. У частини щурів в усіх групах в просвіті канальців деяких ділянок мозкового шару відмічені дрібні мікроліти солей кальцію і злокалізовані поруч дрібновогнищеві круглоклітинні інфільтрати в стромі, що, можливо, пов'язано з характером живлення тварин.

30 У печінці часточковість органу виражена, балочна будова збережена, печінкові балки розташовуються на невеликій відстані один від одного.

Строма печінки в усіх групах представлена тонкими прошарками порталльної сполучної тканини з судинами, що проходять в них, і жовчними протоками. Гепатоцити звичайної форми, з рівномірно забарвленою цитоплазмою; межі між клітинами добре виражені. Ядра гепатоцитів 35 чітко видимі, розташовуються переважно в центрі клітин. Синусоїдальні капіляри вузькі, слабо наповнені кров'ю як в центральних ділянках, так і на периферії часточок. У частини щурів обох статей різних груп зустрічаються невеликих розмірів лімфоїдно-клітинні скупчення перипортально, дрібні вогнища некрозу гепатоцитів. За даними літератури можливою причиною 40 подібних відхилень може бути місцеве ушкодження, що викликається токсичними речовинами, які надходять з кишечника. Окрім цього, у самиць щурів, що отримували ФК в дозах 2 мл/кг

(60 %) і 20 мл/кг (40 %), в перипортальних гепатоцитах виявлена помірна (2 мл/кг) і слабка (20 мл/кг) дрібнокрапельна вакуолізація цитоплазми без порушення цілісності клітини.

У тканині підшлункової залози усіх щурів будова ацинусів звичайна, в цитоплазмі панкреатоцитів добре забарвлюється зимогенна зона, ядра клітин великі, чіткі, розташовані біля базальної мембрани. Явищ злуцування епітелію вивідних проток не відмічено. Острівці Лангерганса різних розмірів, капіляри в них помірно розширені, секреторні клітини без ознак дистрофії.

Часточки тимуса і у щурів контрольних груп, і після введення ФК в різних дозах помірно великі, прошарки сполучної тканини між ними відносно тонкі, в часточках добре простежується розділення на кіркову і мозкову зони, клітинність зон звичайна. Досить часто у тварин, що отримували плацебо і ФК, відмічена картина "зоряного неба", розширення мозкового шару і кістозне розширення з ороговінням тимічних тілець. Ці зміни нагадують 1-2 стадію акцидентальної інволюції тимуса, яка розвивається через низку обставин, у тому числі внаслідок стресу. В даному випадку багаторазне введення досить великого об'єму розчинника або ФК є для тварин стресовим чинником, у відповідь на яке у них формується комплекс у відповідь адаптаційних реакцій.

У селезінці у всіх щурів розміри і кількість фолікул білої пульпи звичайні, структура їх після введення розчинника або ФК не міняється відносно інтактних, червона пульпа помірно повнокровна, містить макрофаги, мегакаріотицити і лімфоцити.

У надниркових залозах усіх щурів розміри і співвідношення поперечних розтинів зон кіркової речовини звичайні. Гістоархітектоніка кожної із зон кори збережена. Ознаки зміни морфологічних характеристик адренкортикоцитів, що свідчать про порушення продукції мінерало- і глюкокортикоїдів, не помічено, рівень ліпоїдизації клітин клубочкового і сітчастого шарів співвідносний у контрольних і досліджених тварин. Хромафінні клітини мозкової кулі без особливостей.

У яєчках у всіх щурів самців були відсутні явища набряку, гіперемії або інфільтрації, атрофії. У звитих насінних каналцях представлені усі шари сперматогенного епітелію. Злуцування епітелію немає. Кількість і розташування клітин Лейдига звичайне.

У яєчниках щурів також не виявлено гемодинамічних порушень. У усіх щурів зустрічаються фолікули і жовті тіла на всіх стадіях розвитку, атретичні фолікули.

Таким чином, результати гістологічних досліджень свідчать про те, що ФК при тривалому внутрішньошлунковому введенні в дозах 2 мл/кг і 20 мл/кг, як і плацебо не викликає у щурів яких-небудь морфологічних проявів токсичної дії в серцевому м'язі, печінці, нирках, легенях, надниркових залозах, підшлунковій залозі, селезінці, органах репродуктивної системи.

Відмічений в тимусі - органі, який виділяється з усіх органів лімфоїдної системи надмірною лабільністю своєї морфологічної структури, легко і швидко виникаючими реактивними морфологічними змінами у відповідь на дії найрізноманітніших чинників, комплекс у відповідь адаптаційних реакцій відповідає 1-2 стадіям акцидентальної трансформації. За даними літератури, ці стадії є зворотними і зникають після припинення стресового впливу. Також у частини самиць щурів, що отримували розчинник або ФК, помірно/слабка вакуолізація гепатоцитів не носить дозозалежного характеру і, очевидно, пов'язана з характером корму, що отримується тваринами, і більшою чутливістю їх в порівнянні з самцями.

Результати дослідження показали, що досліджуваний ФК при тривалому введенні в дозах 2 і 20 мл/кг не викликає у тварин ознак інтоксикації, не робить впливу на загальнотрофічні процеси, на гематологічні показники, на біохімічні показники крові і сечі. Не впливає на центральну нервову систему і серцево-судинну систему лабораторних тварин.

Гістологічні дослідження підтверджують відсутність токсичної дії ФК на внутрішні органи і системи лабораторних тварин. Окремі випадки в тимусі і печінці не носять дозозалежного ефекту і вказують на оборотні процеси.

Тривале введення ФК не чинить місцевоподразнювальної дії на слизову оболонку ШКТ лабораторних тварин.

В результаті дослідження токсичності ФК можна зробити висновок про те, що тривале введення ФК в дозах 2 і 20 мл/кг не викликає у тварин ознак інтоксикації, не робить впливу на загальнотрофічні процеси, на гематологічні показники, на біохімічні показники крові і сечі, фізіологічний стан ЦНС і ССС. Окремі коливання, відмічені впродовж усього періоду дослідження, знаходилися в межах фізіологічної норми, і носили адаптивний характер.

Гістологічне вивчення внутрішніх органів в умовах підгострої токсичності (28 днів) свідчать про відсутність у щурів ознак кардіотоксичної, нефротоксичної і гепатотоксичної дії, не порушується морфофункціональний стан легеневої тканини, периферичного органу імунної системи - селезінки.

Внутрішньошлункове введення ФК і плацебо лабораторним щурам не викликає подразливої дії на стравохід і шлунок тварин, що підтверджено гістологічними дослідженнями.

Наступні дослідження стосуються визначення ефективної дози ФК у вигляді розчину для орального застосування на моделі гострої асфіксії у щурів.

5 Гіпоксія є універсальним патологічним процесом, що супроводжує і визначає розвиток різноманітної патології: ішемічну хворобу серця, інфаркт міокарда, хронічну серцеву недостатність, міокардіопатії, порушення мозкового кровообігу, хронічні обструктивні захворювання легень, астеничний стан та інше.

10 У загальному вигляді гіпоксію можна визначити як дисбаланс у клітині між потребою та продукцією енергії в системі мітохондріального окисного фосфорилування. Причини порушення продукції енергії в клітині за гіпоксичних умов різноманітні: розлади зовнішнього дихання, кровообігу в легенях, транспортної функції кисню крові, порушення системного, регіонарного кровообігу і мікроциркуляції, зниження надходження кисню в мітохондрії при переважній більшості патологічних станів. В результаті розвивається пригнічення мітохондріального окиснення. В першу чергу пригнічується активність NAD-залежних оксидаз (дегідрогеназ) циклу Кребса при початковому збереженні активності FAD-залежної сукцинатоксидази, що інгібуються при більш вираженій гіпоксії. Порушення мітохондріального окиснення призводить до пригнічення сполученого з ним фосфорилування та викликає прогресуючий дефіцит АТФ – універсального джерела енергії в клітині.

20 Дефіцит енергії становить суть будь-якої форми гіпоксії і обумовлює якісно однотипні метаболічні і структурні порушення в різних органах і тканинах. Зниження концентрації АТФ у клітині призводить до послаблення її інгібуючого впливу на один з ключових ферментів гліколізу – фосфофруктокіназу. Гліколіз, який активується при гіпоксії, частково компенсує дефіцит АТФ, однак швидко викликає накопичення лактату і розвиток ацидозу з подальшим автоінгібуванням гліколізу.

Гіпоксія призводить до комплексної модифікації функцій біологічних мембран, що зачіпає як ліпідний бішар, так і мембранні ферменти. Пошкоджуються або модифікуються головні функції мембран: бар'єрна, рецепторна, каталітична.

30 Метою даного доклінічного дослідження було визначення впливу ФК, яка вводиться по способу за технічним рішенням, на біоелектричну активність серця (БЕАС) у щурів на моделі гострої асфіксії. Це важливо для оцінки виразності органотропного антигіпоксичного впливу на серце за умов застосування всередину, для встановлення ефективних доз.

Доклінічне дослідження ФК у вигляді розчину для орального застосування проведено з дотриманням вимог Належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice (GLP)), відповідно до методичних рекомендацій (Стефанов, 2001) і Наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та № 95 від 16.02.2009 р.

Дизайн дослідження

40 Перед проведенням експерименту тварини пройшли акліматизацію протягом 14 діб у кімнаті для випробувань. Групи були сформовані методом рандомізації з використанням маси тіла як головної ознаки. Тварин утримували в пластикових клітках у кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря 20-24 °С, вологість 55±10 %, світловий режим "12 годин день/ніч". Провітрювання кімнати та стерилізацію повітря за допомогою кварцової лампи здійснювали щоденно. Тварини мали вільний доступ до води. Для пиття використовували відстояну водогінну воду. Для годування тварин використовували гранульовані збалансовані комбікорми (ТУ.У15.7-2123600159-001:2007). Догляд за тваринами проводили відповідно до стандартних операційних процедур.

Досліди проводили на статевозрілих щурах самцях масою 180-220 г.

Дослідження проведено на 5-ти групах тварин:

1 група (позитивний контроль) – кількість тварин – 6.

50 2 група (перший тест-зразок) – кількість тварин – 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 100/264 мг/кг ваги.

3 група (другий тест-зразок) – кількість тварин – 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 200/528 мг/кг ваги.

55 4 група (третій тест-зразок) – кількість тварин – 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 300/792 мг/кг ваги.

5 група (четвертий тест-зразок) – кількість тварин – 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 400/1056 мг/кг ваги.

Розчин вводили внутрішньошлунково протягом 3 діб у дозах 1, 2, 3 та 4 мл/кг. Дози для тварин перераховували з добової дози для людини (30 мл/добу за інструкцією до застосування в клініці) за допомогою коефіцієнтів перерахунку доз з урахуванням поверхні тіла за методом Уланової І.П. (Уланова І.П., Сидоров К.К., Халепо А.И. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании. Под ред. А.А. Летавета и И.В. Саноцкого. – Л. Изд. "Медицина", 1968, вып. 10. – стр. 18-25.). Зважаючи на те, що ФК призначений для орального застосування у клініці, лабораторним тваринам ФК вводили внутрішньошлунково за допомогою шприцу через металевий зонд.

Гостру асфікцію моделювали за методом (Степанюк Н.Г. Порівняльна оцінка антигіпоксичних властивостей кордарону, бензофуурокаїну, вінборону та емоксипіну в експерименті / Н.Г. Степанюк, В.В. Юшкова, В.Б. Мудрицький [та ін.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2007. – № 11 (2/1). – С. 576-579., та Степанюк Г.І., Пошук ефективних антигіпоксантів серед похідних бурштинової кислоти/ Г.І Степанюк, О.П. Драчук, С.А. Олійник, О.Г. Юшковська // Спортивна медицина. – 2010. – №4(17). – С.56-59.). На 4-ту добу введення ФК наркотизованих тварин іммобілізували на препарувальному столі. Препарували шкіру, фасції та м'язи шиї за допомогою ножиців та пінцетів. Накладали електроди електрокардіографа, трахею перетискали хірургічним затискачем та реєстрували тривалість БЕАС по ЕКГ до останньої систоли.

Кількісний матеріал оброблено методами варіаційної статистики (середнє значення, його стандартна помилка, медіана, верхній та нижній квартилі) з використанням параметричних (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) та непараметричних методів аналізу (критерій Крускала-Уолліса, Манна-Уїтні). Прийнятий рівень значущості $p < 0,05$. Для отримання статистичних висновків використовували стандартний пакет програм Statistica (версія 6).

Вплив ФК, розчину для орального застосування, на тривалість біоелектричної активності серця (БЕАС) щурів за умови гострої асфіксії та результати визначення впливу ФК, розчину для орального застосування, на БЕАС щурів за умови гострої асфіксії наведено в таблиці 27.

Таблиця 27

Групи тварин	Доза, мл/кг	Тривалість життя (Me (Q25; Q75))	P
Позитивний контроль	-	11,1 (10,4; 11,4)	
Тест-зразок	1	14,5 (12,1; 17,4)	0,0259
	2	13,8 (13,2; 15,0)	0,0411
	3	11,9 (10,3; 12,5)	0,6991
	4	12,2 (11,1; 12,5)	0,3939

Примітки:

p – рівень статистичної значущості при порівнянні з групою позитивного контролю, критерій Манна-Уїтні;

n – кількість тварин у групі.

Відповідно до отриманих даних, введення досліджуваного засобу у дозах 1 та 2 мл/кг ваги статистично значуще підвищувало тривалість життя тварин на 31 % та 24 % відповідно (табл. 27). Збільшення дози тест-зразка не приводило до підвищення ефективності ФК: тривалість БЕАС, яким вводили ФК у дозах 3 і 4 мг/кг ваги, залишалася на рівні позитивного контролю. Отже, отримані дані свідчать, що профілактичне введення ФК, розчину для орального застосування позитивно впливає на БЕАС щурів.

Таким чином, за умови гострої асфіксії, викликаній перетисканням трахеї щурів, встановлено, що ФК підтримує БЕАС щурів, що віддзеркалюється підвищенням тривалості життя тварин за асфіксії. Імовірно, цей кардіопротекторний ефект пояснюється антигіпоксичною дією ФК в міокарді та провідній системі серця. Незважаючи на те, що у кількісному вираженні ефективність ФК в дозі 2 мл/кг ваги була дещо нижчою, ніж у дозі 1 мл/кг ваги, статистично значущих відмінностей між групами не було. На підставі отриманих даних можна констатувати, що найбільшу, майже однакову активність ФК виявляє у дозах 1 і 2 мл/кг ваги, які доцільно використати для подальших досліджень.

На підставі результатів дослідження можна зробити висновок, що ФК, яку вводять по способу за технічним рішенням, у моделі гострої асфіксії позитивно впливає на біоелектричну активність серця щурів, подовжуючи її на 24-31 %, найбільшу ефективність ФК виявляє у дозах 1 і 2 мл/кг ваги.

Для вивчення способу лікування хронічної ішемічної хвороби серця або стабільної стенокардії напруги або атеросклерозу периферичних судин, при якому вводять ФК, було проведено наступне дослідження.

Метою дослідження було вивчення впливу ФК, яку вводять по способу за технічним рішенням, на толерантність до фізичного навантаження і якість життя у пацієнтів зі стабільною стенокардією напруги > II функціонального класу.

Задачі дослідження:

1. Вивчити вплив ФК при курсовому введенні у пацієнтів з хронічною ішемічною хворобою серця:

- толерантність до фізичного навантаження.
- частоту виникнення нападів стенокардії;
- кількість пігулок нітрогліцерину, необхідних для купірування нападів стенокардії;
- якість життя.

Загальний дизайн дослідження

Це дослідження було відкритим, рандомізованим, порівняльним дослідженням III фази в паралельних групах.

Після підписання інформованої згоди виконувалися процедури скринінгу (до 2 днів до рандомізації).

Після підтвердження відповідності критеріям відбору в дослідження, пацієнти розподілялися по групах лікування з використанням збалансованої блокової рандомізації в співвідношенні 1:1 для введення або ФК у поєднанні з базисною терапією або застосування тільки базисної терапії впродовж 21 дня. Завершальний візит проводився на 22 день.

Схема дизайну дослідження представлена в таблиці 28.

Таблиця 28

Скринінг	День - 2-0	Візит 0
Рандомізація	День 1	Візит 1
Прийом ФК	День 1-21	
	День 3±1 день	Візит 2
	День 7±1 день	Візит 3
	День 12	Візит 4 (телефонний візит)
Завершальний візит	День 22±2 день	Візит 5

Для оцінки ефективності і безпеки ФК був вибраний дизайн дослідження, що відповідає поставленим цілям: рандомізоване, порівняльне, в паралельних групах, багатоцентрове дослідження.

Для забезпечення мінімізації систематичної помилки відбору в дослідження вибраний рандомізований дизайн дослідження в паралельних групах.

Як первинний критерій ефективності терапії було вибрано зміну тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні навантажувального тесту (ТДТ) по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом, який є відображенням фармакодинамічної дії ФК.

Як контроль вибрано застосування стандартної базисної терапії, яка згідно з уніфікованим клінічним протоколом МЗ (2015) є оптимальною медикаментозною терапією.

Пацієнти основної групи, крім базисної терапії отримували досліджувану фармацевтичну композицію за технічним рішенням 2 рази на день по 20 мл протягом 10 днів.

Кількість пацієнтів у дослідженнях: число рандомізованих в дослідження пацієнтів складає 110, ІТТ популяція складає 110, РР популяція: складає 91, популяція безпеки складає 110.

Діагноз і основні критерії для включення пацієнтів у дослідження.

В дослідження включалися чоловіки і жінки у віці від 45 до 75 років з діагнозом ішемічна хвороба серця (ІХС), які відповідали усім критеріям включення/невключення і які підписали інформовану згоду на участь в дослідженні. Переважна кількість пацієнтів знаходилась в умовах амбулаторного режиму лікування і спостереження, менша кількість пацієнтів знаходилась в умовах стаціонару.

У дослідження включалися пацієнти, що відповідають усім вказаним критеріям:

1. Чоловіки і жінки у віці від 45-75 років з діагнозом ІХС: стабільна стенокардія напруги > II ФК, верифікованим коронарорентрикулографією, пробами навантажень або наявністю постінфарктного кардіосклерозу.

2. Позитивні результати тредміл-тесту:

5 елевация сегменту ST (>1,0 мм); горизонтальна або похилонисхідна депресія сегменту ST >1 мм через 0,06 с після точки j як мінімум в двох суміжних відведеннях в трьох послідовних комплексах.

3. Готовність і здатність пацієнта виконати вимоги протоколу дослідження.

10 4. Пацієнти, схема лікування або стан яких залишатиметься прогнозовано стабільним впродовж усього періоду їх участі в дослідженні.

5. Негативний результат тесту на вагітність і згоду використати адекватні методи контрацепції упродовж усього дослідження (застосовано для жінок репродуктивного віку).

6. Наявність підписаної пацієнтом форми інформованої згоди на участь в дослідженні.

15 У цьому дослідженні як досліджувана терапія вводилася ФК, розчин оральний, 1 мл розчину містить: 100 мг левокарнітину і 264 мг аргініну аспартату, допоміжні речовини: кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (Е 218), пропілпарагідроксибензоат (Е 216), вода для ін'єкцій. Спосіб застосування – всередину, перед їжею, по 2 небули 2 рази на добу, уранці і увечері, у поєднанні із застосуванням стандартної терапії.

Тривалість терапії складала 21 день.

20 У контрольній групі призначалася стандартна терапія.

Критерії оцінки ефективності та безпеки заявленої фармацевтичної композиції при її застосуванні у стандартній терапії.

Критерії ефективності заявленої фармацевтичної композиції були наступні.

25 Первинний критерій ефективності – це зміна тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні навантажувального тесту (ТДТ) по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом.

Вторинні критерії ефективності:

30 1) збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні навантажувального тесту (ТДТ) по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування на 1 хвилину;

2) збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні навантажувального тесту (ТДТ) по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування на 2 хвилини;

35 3) динаміка пікового споживання кисню за результатами ТДТ після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом;

4) зміна потужності порогового навантаження при проведенні навантажувального тесту ТДТ після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом;

5) кількість нападів стенокардії за тиждень і їх динаміка;

40 6) кількість прийнятих доз (пігулок) нітрогліцерину за тиждень і їх динаміка; зменшення кількості прийнятих за тиждень пігулок нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії після закінчення 21-денного курсу лікування;

7) зменшення кількості нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом;

45 8) зменшення кількості споживаних пігулок (доз) нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом;

9) зміна рівня потік-залежної вазодилатації після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом;

10) зміна дисперсії QTc, кількість аритмічних подій за результатами добового моніторування ЕКГ після закінчення 21-денного курсу лікування.

50 11) оцінка якості життя по опитувачу HeartQol і її динаміка після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом.

Критерії безпеки заявленої фармацевтичної композиції були наступні:

1) загальна частота побічних явищ;

55 2) частота серйозних побічних явищ;

3) частота побічних явищ, пов'язаних із застосуванням досліджуваної ФК;

4) частота побічних явищ, які привели до вибування пацієнта з дослідження;

60 5) частота побічних явищ, раніше не описаних в інструкції по застосуванню досліджуваної ФК.

Статистичні методи, які використовувались під час проведенні досліджень.

Аналіз даних проводився в наступних популяціях:

- популяція усіх включених пацієнтів (Intent-to-treat, ITT): усі рандомізовані пацієнти, які застосували хоч би одну дозу досліджуваної ФК/ стандартної терапії.

- популяція пацієнтів по протоколу (per protocol, PP): усі рандомізовані пацієнти, які отримали повний курс лікування досліджуваними лікарськими засобами і не мали значимих відхилень від протоколу.

- популяція безпеки (safety): усі рандомізовані пацієнти, які застосували хоч би одну дозу досліджуваного препарату / стандартної терапії.

Основною популяцією для оцінки первинного критерію ефективності була популяція PP. Додатково, первинний критерій ефективності був проаналізований в популяції ITT. Основною популяцією для оцінки вторинних критеріїв ефективності була популяція ITT. Додатково, вторинні критерії ефективності проаналізовані в популяції PP. Основною популяцією для оцінки безпеки була популяція безпеки. Демографічні дані, показники ефективності і безпеки представлені по групах лікування з використанням описової статистики:

Безперервні (кількісні) дані представлені за допомогою наступних параметрів:

- кількість спостережень (n);
- середнє (M);
- стандартне відхилення (З);
- 95 % довірчий інтервал для середнього (95 % ДІ);
- мінімальне значення (хв.);
- максимальне значення (макс.);
- медіана (Me);
- межквартильний діапазон (МКД).

Для змінних, представлених у вигляді якісних і порядкових показників, були розраховані абсолютні (n) і відносні (у %) частоти для кожної категорії, а також 95 % ДІ. На початку статистичного аналізу була виконана перевірка однорідності груп за основними початковими показниками (демографічні і антропометричні характеристики пацієнтів) для оцінки успішності проведеної рандомізації (оцінка збалансованості показників в групах). Для кількісних показників було виконано порівняння груп за допомогою t- критерію Стюдента для незалежних вибірок або критерію Манна-Уїтні залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлкі. Для категоріальних показників порівняння груп проводилося за допомогою критерію ксі-квадрат Пірсона (χ^2). У разі, якщо у будь-якому з елементів таблиці зв'язаності очікувані частоти були менше 5, для порівняння застосовувався точний критерій Фішера. При застосуванні критерію ксі-квадрат Пірсона у разі дихотомічних (бінарних) змінних використовувалася поправка Йетс (поправка на безперервність).

Згідно з уніфікованим клінічним протоколом МЗ (2015) є оптимальною медикаментозною терапією, і включає як мінімум один препарат, який впливає на симптоми стенокардії і препарати, які впливають на відвертання ускладнень захворювання.

- Препарати для короткострокового контролю симптомів включають: гліцерил тринітрат (нітрогліцерин короткої дії) у вигляді пігулок або спрею для припинення нападу стенокардії або для його попередження.

- Терапія для тривалого контролю симптомів і профілактики нападів для пацієнтів із стабільною стенокардією напруги включає: препарати 1 ряду: бета-блокатори, блокатори кальцієвих каналів, які знижують ЧСС в адекватних дозах з урахуванням побічних дій і наявних протипоказань. При недостатній ефективності терапії, рекомендується замінити бета-блокатор на блокатор кальцієвих каналів або призначити комбінацію бета-блокатора і дигідропіридинових блокаторів кальцієвих каналів.

При недостатній ефективності терапії першого ряду для контролю симптомів стенокардії до терапії додати один або комбінацію препаратів другого ряду - нітрати пролонгованої дії, івабрадин в адекватних дозах.

Призначення препаратів для профілактики ускладнень (згідно з клінічним протоколом МЗ (2015)):

- Препарати ацетилсаліцилової кислоти в дозі 75-150 мг/добу. При непереносимості ацетилсаліцилової кислоти призначаються препарати клопідогреля в дозі 75 мг в добу за відсутності протипоказань.

- Статини, призначаються усім пацієнтам зі встановленим діагнозом ІХС, незалежно від показників ліпідного профілю.

- Пацієнтам із стабільною ІХС і цукровим діабетом, артеріальною гіпертензією, хронічною серцевою недостатністю або безсимптомним порушенням функції лівого шлуночка призначаються інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту або блокатори до рецепторів ангіотензину.

За даними доклінічного дослідження визначення ефективної дози ФК, розчину орального, при внутрішньошлунковому введенні на моделі гострої асфіксії у щурів найбільшу ефективність ФК проявила в дозах 1 і 2 мл/кг ваги. Виходячи з отриманих результатів, а також на підставі даних літератури, де з точки зору співвідношення фармакокінетики, фармакодинаміки, і безпеки оптимальна доза для перорального прийому аргініну складає 6 г на добу, було вирішено використати в клінічному дослідженні 40 мл ФКА як оптимальну добову дозу.

Аналіз первинного критерію ефективності заявленої фармацевтичної композиції був зроблений наступним чином.

Відповідно до мети і завдань дослідження, нульова гіпотеза (H_0) була сформульована таким чином:

- нульова гіпотеза (H_0) полягає в тому, що ефективність терапії, що включає заявлену фармацевтичну композицію, поступатиметься ефективності стандартної терапії або є рівною їй;
- альтернативна гіпотеза (H_a) полягає в тому, що ефективність терапії, що включає заявлену фармацевтичну композицію, перевищуватиме ефективність стандартної терапії.

$$H_0: \varepsilon \leq \delta$$

$$H_a: \varepsilon > \delta$$

де $\delta \geq 0$ - величина клінічно значимих відмінностей, при якій можна вважати, що терапія, що включає досліджувану ФК, перевершує по ефективності базисну терапію;

ε - різниця середніх [Твізит5 - Твізит 0] = μ (комплексна терапія) - μ (стандартна терапія), де μ - середнє арифметичне головної змінної для відповідної групи.

Для оцінки відмінностей по первинному критерію ефективності між групами був використаний t-критерій Стюдента, або U-критерій Манна-Уїтні залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлки. Відмінність ефективності терапії аналізувалася з використанням двосторонніх довірчих інтервалів (ДІ). Розрахунок 95 % ДІ проводився на підставі t-розподілу. Відповідно до протоколу, висновок про ефективність комплексної терапії, що перевищує, в основній групі (включає заявлену фармацевтичну композицію) в порівнянні із стандартною терапією в контрольній групі був зроблений на підставі наявності позитивних статистично значимих відмінностей між групами по первинному критерію на користь основної групи. Позитивними вважалися такі результати, коли збільшення тривалості навантаження по тредміл-тесту в основній групі більше збільшення тривалості навантаження по тредміл-тесту для контрольної групи.

Динаміка в групах оцінена за допомогою парного t- критерію Стюдента або критерію знакових рангів Уїлкоксона в кожній групі залежно від результатів перевірки за допомогою критерію Шапіро-Уїлки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0]. Було розраховано відносне збільшення/зменшення первинного критерію ефективності. І оцінено за допомогою парного t-критерію Стюдента або критерію знакових рангів Уїлкоксона в кожній групі залежно від результатів перевірки за допомогою критерію Шапіро-Уїлки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0]. Було розраховано відносне збільшення/зменшення первинного критерію ефективності.

Аналіз вторинних критеріїв ефективності фармацевтичної композиції, що застосовують у запропонованому способі, було проведено наступним чином.

Для критерію - збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні тесту навантаження (тредміл-тест, ТДТ) по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування на 1 хвилину. Для порівняння груп була створена дихотомічна змінна: збільшення тривалості навантаження до закінчення курсу лікування на 1 хв. (збільшення є/збільшення немає), по якій приведені показники описової статистики в кожній групі (частота і частка в %). Порівняння між групами дослідження проведено за допомогою критерію ксі-квадрат Пірсона (χ^2) (з поправкою Йетс у разі дихотомічних (бінарних) змінних) або двостороннього варіанту точного критерію Фішера (при очікуваних частотах менше 5).

Для критерію - збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні тесту навантаження (ТДТ) по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування на 2 хвилини. Для порівняння груп була створена дихотомічна змінна: збільшення тривалості навантаження до закінчення курсу лікування на 2 хв. (збільшення є/збільшення немає), по якій приведені показники описової статистики в кожній групі (частота і частка в %). Порівняння між групами дослідження проведено за допомогою критерію ксі-квадрат Пірсона (χ^2) (з поправкою Йетс у разі дихотомічних (бінарних) змінних) або двостороннього варіанту точного критерію Фішера (при очікуваних частотах менше 5).

Для критерію - динаміка пікового споживання кисню за результатами ТДТ після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом. Динаміка в групах представлена графічно і за допомогою описової статистики і оцінена за допомогою парного t-критерію

Ст'юдента або критерію знакових рангів Уїлкоксона в кожній групі залежно від результатів перевірки за допомогою критерію Шапіро-Уїлки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0]. Було розраховано відносне збільшення/зменшення показника. Для оцінки відмінностей між групами був використаний t-критерій Ст'юдента, або U-критерій Манна-Уїтні залежно від

5 результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлки.

Для критерію - зміна потужності порогового навантаження при проведенні навантаження ТДТ після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом. Динаміка в групах представлена графічно і за допомогою описової статистики і оцінена за допомогою

10 парного t-критерію Ст'юдента або критерію знакових рангів Уїлкоксона в кожній групі залежно від результатів перевірки за допомогою критерію Шапіро-Уїлки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0]. Було розраховано відносне збільшення/зменшення показника. Для оцінки відмінностей між групами використаний t-критерій Ст'юдента, або U-критерій Манна-Уїтні

15 залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлки.

Для критерію - кількість нападів стенокардії за тиждень і їх динаміка. Динаміка в групах представлена графічно і за допомогою описової статистики. Для оцінки відмінностей різниць [Твізит5 - Твізит0] між групами був використаний t-критерій Ст'юдента, або U-критерій Манна-Уїтні залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою

20 критерію Шапіро-Уїлки.

Для критерію - кількість прийнятих доз (пігулок) нітрогліцерину за тиждень і їх динаміка. Динаміка в групах представлена графічно і за допомогою описової статистики. Для оцінки відмінностей різниць [Твізит5 - Твізит0] між групами використаний t-критерій Ст'юдента, або U-критерій Манна-Уїтні залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлки

25 за допомогою критерію Шапіро-Уїлки

Для критерію - зменшення кількості нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом. Для порівняння груп була створена категоріальна змінна, за допомогою якої можна оцінити наявність/відсутність 50 % зменшення значення показника у кінці лікування (Твізит 5) в порівнянні з Твізит 0 (категорії: є зменшення на 50 % і більше/немає зменшення на 50 %), по якій приведені показники описової статистики в кожній групі (частота і частка в %). Порівняння між групами дослідження було проведене за допомогою критерію ксі-квадрат Пірсона (χ^2) (з поправкою Йетс у разі дихотомічних (бінарних) змінних) або двостороннього варіанту точного критерію Фішера (при очікуваних частотах менше 5).

30 Для критерію - зменшення кількості споживаних пігулок (доз) нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом. Для порівняння груп була створена категоріальна змінна, за допомогою якої можна оцінити наявність/відсутність 50 % зменшення значення показника у кінці лікування (Твізит 5) в порівнянні з Твізит 0 (категорії: є зменшення на 50 % і більше/немає зменшення на 50 %), по якій приведені показники описової статистики в кожній групі (частота і частка в %). Порівняння між групами дослідження проведене за допомогою критерію ксі-квадрат Пірсона (χ^2) (з поправкою Йетс у разі дихотомічних (бінарних) змінних) або двостороннього варіанту точного критерію Фішера (при очікуваних частотах менше 5).

35 Для критерію - зміна рівня потік-залежної вазодилатації після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом. Динаміка в групах представлена графічно і за допомогою описової статистики і оцінена за допомогою парного t-критерію Ст'юдента або критерію знакових рангів Уїлкоксона в кожній групі залежно від результатів перевірки за допомогою критерію Шапіро-Уїлки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0]. Було

40 вчислено відносне збільшення/зменшення показника. Для оцінки відмінностей між групами використаний t-критерій Ст'юдента, або U-критерій Манна-Уїтні залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлки.

50 Для критерію - зміна дисперсії QTс, кількість аритмічних подій за результатами добового моніторингу ЕКГ після закінчення 21-денного курсу лікування. Динаміка в групах представлена графічно і за допомогою описової статистики і оцінена за допомогою парного t-критерію Ст'юдента або критерію знакових рангів Уїлкоксона в кожній групі залежно від результатів перевірки за допомогою критерію Шапіро-Уїлки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0]. Було розраховано відносне збільшення/зменшення показника. Для оцінки відмінностей між групами використаний t-критерій Ст'юдента, або U-критерій Манна-Уїтні залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлки.

55

Для критерію - оцінка якості життя по опитувачу HeartQoL і її динаміка після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом. Динаміка в групах представлена графічно і за допомогою описової статистики і оцінена за допомогою парного t-критерію Стьюдента або критерію знакових рангів Уїлкоксона в кожній групі залежно від результатів перевірки за допомогою критерію Шапіро-Уїлки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0]. Було розраховано відносне збільшення/зменшення показника. Для оцінки відмінностей між групами використаний t-критерій Стьюдента, або U-критерій Манна-Уїтні залежно від результатів перевірки нормальності розподілу даних в групах за допомогою критерію Шапіро-Уїлки.

В усіх випадках був використаний двосторонній варіант відповідного критерію з рівнем значущості (α - вірогідність помилки I роду) 0,05. Для критерію Шапіро-Уїлки використаний рівень значущості 0,01.

Аналіз безпеки заявленої фармацевтичної композиції було проведено наступним чином.

Результати лабораторних досліджень (показники клінічного аналізу крові, загального аналізу сечі, біохімічне дослідження крові), результати виміру частоти серцевих скорочень (ЧСС), артеріального тиску (АТ) представлені по групах лікування з використанням описової статистики.

Була виконана оцінка зміни зазначених вище показників в кожній групі по візитах і для різниці [Твізит5 - Твізит0]. Проведена оцінка значущості зміни динаміки аналізованих показників в кожній групі за допомогою t-критерію Стьюдента для парних даних або критерію знакових рангів Уїлкоксона залежно від результатів перевірки нормальності розподілу різниць [Твізит5 - Твізит0] за допомогою критерію Шапіро-Уїлки. Кожен показник був перетворений в категоріальну змінну (норма/клінічно незначиме відхилення/клінічно значиме відхилення) для якої в кожній групі і для кожного візиту відповідно до схеми обстеження пацієнтів була вичислена частота і частка у %.

Попередні, супутні захворювання і НЯ кодувалися за допомогою класифікатора MedDRA. Попередня і супутня терапія кодувалися за допомогою класифікатора АТС. По кожній кінцевій точці безпеки для кожної групи розраховані показники описової статистики (частота і частка у відсотках для кожної групи). Порівняння груп за кількістю пацієнтів з НЯ зроблене за допомогою критерію ксі-квадрат Пірсона (χ^2) (з поправкою Йетс у разі дихотомічних (бінарних) змінних) або двостороннього варіанту точного критерію Фішера (при очікуваних частотах менше 5).

Усього в дослідження було включено 110 пацієнтів. 110 пацієнтів було рандомізовано і 109 закінчили дослідження. Популяцію ІТТ склали 110 пацієнтів, популяція РР - 91 пацієнт, в популяцію безпеки було включено 110 пацієнтів.

Тредміл-тест (ТДТ) проводився під час візиту 0 і візиту 5 на тредмілі "VALIANT" (Lode BV, Нідерланди) або його аналогу. Дослідження проводилося по модифікованому протоколу R. Вгусе. Розраховувалися наступні показники: толерантність до фізичного навантаження і функціональний клас стенокардії. Висока - I функціональний клас, при енергоємності виконаного фізичного навантаження більше 7,0 MET. Середня толерантність до ФН, II-III функціональний клас (енергоємність II класу - 4,0-6,9 MET, III-2,0-3,9 MET). Низька толерантність - IV функціональний клас (метаболічна вартість навантаження менше 2,0 MET). Крім того, розраховувалися наступні показники: загальний час навантаження і пікове споживання кисню. Інтерпретацію ТДТ проводив лікар-кардіолог.

Облік кількості нападів стенокардії і кількості прийнятого нітрогліцерину

Облік проводився на візиті 0 і візиті 5 за допомогою щоденників по реєстрації нападів стенокардії. Інтерпретацію результатів проводив лікар-кардіолог.

Потік-залежна вазодилатація

Тест потік-залежної вазодилатації проводився на візиті 0 і візиті 5 на ультразвуковому апараті Philips HD11XE або його аналогу лінійним датчиком з частотою 3-12 МГц. Сканування правої плечової артерії проводили на 2-10 см вище за ліктьовий згин, манжету тонометра накладали на передпліччя нижче місця локації артерії. У початковому стані вимірювали діаметр плечової артерії і швидкість кровотоку. Діаметр плечової артерії визначали як відстань між передньою і задньою стінками артерії на межі інтим судини у фазі звичайної діастолі кровотоку, яку визначали у момент появи зубця R на ЕКГ, синхронізований з ультразвуковим зображенням. ПЗВД визначали на 60-ій секунді після 5 хв. компресії плечової артерії тиском на 50 мм рт. ст. вище за рівень систолічного артеріального тиску хворої шляхом розрахунку відсотка зміни діаметра артерії порівняно з початковим.

Добовий моніторинг ЕКГ

Добовий моніторинг ЕКГ на системі Діакард DC 03250 v2.1 або її аналогу проводився під час візиту 0 і візиту 5. Під час цього дослідження реєструвалися наступні показники: середня

добова частота серцевих скорочень, максимальна і мінімальна ЧСС, число і характеристики шлуночкових і надшлуночкових порушень ритму, дисперсія інтервалу QTc, показники варіабельного серцевого ритму: SDNN, SDANN, RMSSD. Інтерпретацію результатів проводив лікар-кардіолог.

5 Опитувач "Опитувач якості життя (HeartQoL)"

Опитувач якості життя HeartQoL видавався пацієнтові на візиті 0 і візиті 5. Інтерпретацію результатів проводив лікар-кардіолог.

Проводилася оцінка наступних параметрів безпеки:

- загальна частота побічних явищ;
- 10 - частота серйозних побічних явищ;
- частота побічних явищ, пов'язаних із застосуванням досліджуваної ФК;
- частота побічних явищ, які привели до вибування пацієнта з дослідження;
- частота побічних явищ, раніше не описаних в інструкції по застосуванню досліджуваної ФК.

15 Безпека і переносимість 21-денного прийому ФК, розчину орального, оцінювалася на підставі суб'єктивних симптомів і відчуттів, що повідомляються пацієнтом дослідникові і об'єктивних даних, отриманих в процесі лікування.

У аналізі безпеки ФК враховувалися дані фізикального обстеження, лабораторних і інструментальних обстежень. Оцінка безпеки проводилася упродовж усього дослідження.

Оцінка життєво важливих показників

20 Визначення основних параметрів життєдіяльності (вимір ЧСС, ЧД, АТ, температури тіла) робилося до проведення фізикального огляду у спокої (після 15 хвилин відпочинку, не раніше ніж за годину після паління цигарок і 2 години після їжі). Частота серцевих скорочень (ЧСС) вимірювалася при аускультатії серця паралельно з визначенням частоти пульсу на променевій артерії (або на сонній артерії при слабкій пульсації на променевій артерії) впродовж хвилини в положенні сидячи, у разі дефіциту пульсу реєструвалися обидва параметри: ЧСС і частота

25 пульсу. Частоту дихання (ЧД) вимірювали впродовж хвилини у спокої в положенні лежачи, відмічаючи дихальні рухи грудної клітки або черевної стінки, не привертаючи увагу пацієнта.

Зміна артеріального тиску робилася на плечовій артерії в положенні пацієнта лежачи по методу Короткова за допомогою сертифікованого сфігмоманометра або тонометра з використанням манжети довжини і ширини, підібраних по довжині і колу плеча пацієнта відповідно до рекомендацій по виміру АТ РМОАГ/ВНОК, 2010. Розмір манжети повинен був відповідати розміру руки: гумова частина манжети, що роздувається, повинна охоплювати не менше 80 % кола плеча; для дорослих осіб застосовувалася манжета шириною 12-13 см і завдовжки 30-35 см (середній розмір); але необхідно було мати в наявності велику і маленьку манжету для повних і худих рук відповідно. Столпчик ртуті або стрілка тонометра перед початком виміру повинні були знаходитися на нульовій відмітці. Для оцінки рівня АТ на кожній руці необхідно було виконати не менше двох вимірів з інтервалом не менше 1 хв. при різниці АТ > 5 мм рт. ст. робили один додатковий вимір; за кінцеве(реєстроване) значення бралася мінімальне з трьох вимірів.

40 Техніка виміру:

- швидко накачати повітря в манжету до рівня тиску, на 20 мм рт. ст. того, що перевищує САТ (по зникненню пульсу);

- АТ вимірюють з точністю до 2 мм рт. ст.;

- знижувати тиск в манжеті зі швидкістю приблизно 2 мм рт. ст. за 1 секунду;

45 - рівень тиску, при якому з'являється 1-й тон, відповідає САТ (1 фаза тонів Короткова);

- рівень тиску, при якому відбувається зникнення тонів (5 фаза тонів Короткова) відповідає ДАТ; у дітей, підлітків і молодих людей відразу після фізичного навантаження, у вагітних і при деяких патологічних станах у дорослих, коли неможливо визначити 5 фазу, слід спробувати визначити 4 фазу тонів Короткова, яка характеризується значним послабленням тонів;

50 - якщо тони дуже слабкі, то слід підняти руку і виконати декілька стискаючих рухів кистю, потім вимір повторити, при цьому не слід сильно здавлювати артерію мембраною фонендоскопа;

- при первинному огляді пацієнта слід виміряти тиск на обох руках; надалі виміри проводять на тій руці, на якій АТ вище.

55 Лабораторні дослідження

Забір крові для аналізу робився уранці натщесерце (10-12 годин після останнього прийому їжі) з ліктьової вени одноразовим стерильним шприцом з дотриманням умов асептики/антисептики. Для аналізів був необхідний забір приблизно 12 мл крові (1 столова ложка) на візиті 0 і візиті 5. Для загального аналізу сечі збиралася уранішня середня порція

після адекватної гігієни промежини, сеча мала бути доставлена в лабораторію впродовж двох годин після збору.

Клінічний аналіз крові (вміст гемоглобіну, еритроцити, лейкоцити, лейкоцитарна формула, ШОЕ), біохімічний аналіз крові (концентрація глюкози, лактату і пірувату в сироватці крові, концентрація сечовини і креатиніну, білірубину, АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ, КФК, загальною концентрація альбуміну), глюкоза крові з ліктьової вени і загальний аналіз сечі (колір, прозорість, відносна щільність, рН, глюкоза, білок, кетонів тіла) проводилися в лабораторії дослідницького центру.

Графік дослідження показує етапи дослідження і процедури, які проводилися для кожного учасника дослідження.

Якщо пацієнт відвідав дослідницький центр поза запланованими візитами (незапланований візит), то це не впливало на порядок проведення запланованих візитів. Усі проведені обстеження під час незапланованого візиту документувалися в первинній документації і ІРК.

Розклад візитів і процедур наведено у таблиці 29.

Таблиця 29

Етапи дослідження	Скринінг	Рандомізація	Прийом ФК			Завершальний візит
Візити	0	1	2	3	4*	5
Дні дослідження	-2-0	1	3	7	12±1	22±1
Демографічні і антропометричні дані анамнез: • стать, вік, зріст, вага; • супутні захворювання	•					
Вимір АТ, ЧСС, ЧД, t	•		•	•		•
Об'єктивний огляд	•		•	•		•
Реєстрація суб'єктивних скарг	•		•	•	•	•
Лабораторне обстеження: • загальний аналіз крові; • загальний аналіз сечі; • глюкоза крові; • біохімічний аналіз крові.	•					•
Тест сечі на вагітність (для жінок дітородного віку)	•					
Облік кількості нападів стенокардії і кількості прийнятого нітрогліцерину	•					•
Ехокардіографія	•					
Електрокардіографія	•					•
Тредміл-тест	•					•
Добовий моніторинг ЕКГ	•					•
Визначення потік-залежної вазодилатації	•					•
Видача і заповнення опитувача якості життя (HeartQoL)	•					•
Оцінка критеріїв включення/невключення	•					
Оцінка критеріїв невиключення	•		•	•	•	
Видача "Картка учасника клінічного дослідження"		•				
Видача препаратів		•		•		
Прийом ФК		•	•	•	•	
Реєстрація ПР/ПЯ		•	•	•	•	•
Телефонне опитування					•	

Результати досліджень

Зміна тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні навантажувального тесту (ТДТ) по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом.

Популяція РР

5 Середня (\pm СВ) тривалість фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту на початковому рівні склала в основній групі $4,95 \pm 2,05$ хв., в контрольній групі $5,11 \pm 1,82$ хв. (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,695$).

10 Середня (\pm СВ) тривалість фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування склала в основній групі $5,82 \pm 2,15$ хв. (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p < 0,001$), в контрольній групі $5,39 \pm 2,02$ хв. (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,160$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,161$).

15 Абсолютна середня різниця (\pm СВ) тривалості фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $0,87 \pm 1,21$ (95 % ДІ 0,51; 1,23) хв., в контрольній групі $0,28 \pm 1,30$ (95 % ДІ - 0,10; 0,67) (відмінності між групами статистично значимі, $p < 0,001$). Середня відмінність між групами склала 0,589 хв. (95 % ДІ 0,067; 1,111) (відмінності між групами статистично значимі).

20 Відносна середня різниця (\pm СВ) тривалості фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $23,89 \pm 39,27$ % (95 % ДІ 12,10; 35,69), в контрольній групі $8,29 \pm 25,49$ % (95 % ДІ 0,72; 15,85) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,001$).

25 Таким чином, можна зробити висновок, що в основній групі при аналізі в популяції РР тривалість фізичного навантаження статистично значимо збільшилася в порівнянні з контрольною групою, таким чином можна вважати доведеною гіпотезу про перевагу застосування ФКА у поєднанні з базовою стандартною терапією в порівнянні із застосуванням тільки базової терапії за первинним критерієм ефективності.

Популяція ІТТ

30 Середня (\pm СВ) тривалість фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту на початковому рівні склала в основній групі $4,98 \pm 1,95$ хв. в контрольній групі $5,20 \pm 1,74$ хв. (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,506$).

35 Середня (\pm СВ) тривалість фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування склала в основній групі $5,95 \pm 2,08$ хв. (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p < 0,001$), в контрольній групі $5,41 \pm 1,92$ хв. (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,267$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,053$).

40 Абсолютна середня різниця (\pm СВ) тривалості фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $0,93 \pm 1,15$ хв. (95 % ДІ 0,62; 1,25), в контрольній групі $0,21 \pm 1,22$ (95 % ДІ 0,12; 0,54) відмінностей між групами статистично значимі, $p < 0,001$). Середня відмінність між групами склала 0,724 хв. (95 % ДІ 0,272; 1,176) (відмінності між групами статистично значимі).

45 Відносна середня різниця (\pm СВ) тривалості фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $24,32 \pm 36,64$ % (95 % ДІ 14,31; 34,32), в контрольній групі $6,51 \pm 24,04$ % (95 % ДІ 0,01; 13,01) (відмінності між групами статистично значимі, $p < 0,001$).

Таким чином, можна зробити висновок, що в основній групі при аналізі в популяції ІТТ тривалість фізичного навантаження статистично значимо збільшилася в порівнянні з контрольною групою.

50 Збільшення тривалості фізичного навантаження при проведенні тесту (ТДТ) навантаження по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування на 1 хвилину в порівнянні з початковим станом.

Популяція ІТТ

55 Збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження на 1 хвилину при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування було зареєстроване у 21/54 (38,89 %) пацієнта, в контрольній групі - у 8/55 (14,55 %) пацієнтів (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,008$). Середня відмінність склала 24,343 % (95 % ДІ 7,752; 39,387) (відмінності між групами статистично значимі).

60 Таким чином, можна зробити висновок, що в основній групі частка пацієнтів, у яких збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склало 1 хвилину, статистично значимо вище, ніж в контрольній групі.

Популяція РР

Збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження на 1 хвилину при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування було зареєстроване у 17/45 (37,78 %) пацієнтів, в контрольній групі - у 8/46 (17,39 %) пацієнтів (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,052$). Середня відмінність склала 20,386 % (95 % ДІ 1,995; 37,177) (відмінності між групами статистично не значимі).

Таким чином, можна зробити висновок, що в основній групі частка пацієнтів, у яких збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склало 1 хвилину, статистично не відрізняється від контрольної групи.

Збільшення тривалості фізичного навантаження при проведенні навантажувального тесту (ТДТ) навантаження по протоколу R.Bruse після закінчення 21-денного курсу лікування на 2 хвилини в порівнянні з початковим станом.

Популяція ІТТ

Збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження на 2 хвилини при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування було зареєстроване у 8/54 (14,81 %) пацієнтів, в контрольній групі - у 3/55 (5,45 %) пацієнтів (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,191$). Середня відмінність склала 9,360 % (95 % ДІ - 2,426; 21,678) (відмінності між групами статистично не значимі).

Таким чином, можна зробити висновок, що частки пацієнтів, у яких збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склало 2 хвилини, статистично не відрізняються в основній і контрольній групах.

Популяція РР

Збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження на 2 хвилини при проведенні тредміл-тесту після закінчення курсу лікування було зареєстроване у 6/45 (13,33 %) пацієнтів, в контрольній групі - у 3/46 (6,52 %) пацієнтів (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,315$). Середня відмінність склала 6,812 % (95 % ДІ - 6,252; 20,350) (відмінності між групами статистично не значимі).

Таким чином, можна зробити висновок, що частки пацієнтів, у яких збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склало 2 хвилини, статистично не відрізняються в основній і контрольній групах.

Динаміка пікового споживання кисню за результатами ТДТ після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом

Популяція ІТТ

Середнє значення (± 3) пікового споживання кисню при проведенні тредміл-тесту на початковому рівні в основній групі склало $15,05 \pm 7,98$ мл/хв./кг, в контрольній групі - $14,69 \pm 7,36$ мл/хв./кг (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,995$).

Середнє значення ($\pm CB$) пікового споживання кисню при проведенні тредміл-тесту після лікування в основній групі склало $17,22 \pm 9,54$ мл/хв./кг (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p<0,001$), в контрольній групі $15,18 \pm 7,48$ мл/хв./кг (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p=0,154$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p=0,228$).

Абсолютна середня різниця ($\pm CB$) пікового споживання кисню після закінчення лікування в порівнянні з вихідним рівнем становила в основній групі $2,16 \pm 4,40$ мл/хв/кг (95 % ДІ 0,96; 3,36), в контрольній групі $0,49 \pm 3,38$ мг/хв/кг (95 % ДІ -0,42; 1,41) (відмінності між групами статистично значущі, $p<0,001$).

Відносна середня різниця ($\pm CB$) пікового споживання кисню після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $18,93 \pm 47,58$ % (95 % ДІ 5,95; 31,92), в контрольній групі $7,25 \pm 34,03$ % (95 % ДІ - 1,95; 16,45) (відмінності між групами статистично значимі, $p<0,001$).

Таким чином, була виявлена статистично значима різниця у збільшенні пікового споживання кисню після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем між основною і контрольною групами, як в абсолютних, так і у відносних значеннях.

Популяція РР

Середнє значення ($\pm CB$) пікового споживання кисню при проведенні тредміл-тесту на початковому рівні в основній групі склало $14,32 \pm 8,60$ мл/хв/кг, в контрольній групі - $13,76 \pm 7,67$ мл/хв./кг (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,934$).

Середнє значення (± 3) пікового споживання кисню при проведенні тредміл-тесту після лікування в основній групі склало $16,05 \pm 9,87$ мл/хв/кг (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p < 0,001$), в контрольній групі $14,44 \pm 7,93$ мл/хв/кг (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,066$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,549$).

Абсолютна середня різниця ($\pm CB$) пікового споживання кисню після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $1,72 \pm 4,48$ мл/хв/кг (95 % ДІ 0,38; 3,07), в контрольній групі $0,69 \pm 3,63$ мл/хв/кг (95 % ДІ - 0,39; 1,77) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,002$).

Відносна середня різниця ($\pm CB$) пікового споживання кисню після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $18,19 \pm 51,66$ % (95 % ДІ 2,67; 33,72), в контрольній групі $9,16 \pm 36,87$ % (95 % ДІ - 1,79; 20,11) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,001$).

Таким чином, була виявлена статистично значима різниця у збільшенні пікового споживання кисню після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем між основною і контрольною групами як в абсолютних, так і у відносних значеннях.

Зміна потужності порогового навантаження при проведенні ТДТ тесту навантаження після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом

Популяція ІТТ

Середнє значення ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту на початковому рівні склало в основній групі $6,34 \pm 2,18$ МЕТ, в контрольній групі $6,51 \pm 2,09$ МЕТ (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,936$).

Середнє значення ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування склало в основній групі $7,52 \pm 2,71$ МЕТ (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p < 0,001$), в контрольній групі $6,57 \pm 2,24$ МЕТ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,440$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,073$).

Абсолютна середня різниця ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $1,15 \pm 1,85$ МЕТ (95 % ДІ 0,64; 1,65), в контрольній групі $0,06 \pm 1,20$ МЕТ (95 % ДІ - 0,26; 0,38) (відмінності між групами статистично значимі, $p < 0,001$).

Відносна середня різниця ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $20,53 \pm 32,80$ % (95 % ДІ 11,58; 29,48), в контрольній групі $2,02 \pm 14,76$ % (95 % ДІ - 1,97; 6,01) (відмінності між групами статистично значимі, $p < 0,001$).

Таким чином, була виявлена статистично значима різниця у збільшенні потужності порогового навантаження після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем між основною і контрольною групами як в абсолютних, так і у відносних значеннях.

Популяція РР

Середнє значення ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту на вихідному рівні склало в основній групі $6,28 \pm 2,37$ МЕТ, в контрольній групі $6,45 \pm 2,26$ МЕТ (статистично значущих відмінностей між групами немає, $p = 0,948$).

Середнє значення ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування склало в основній групі $7,19 \pm 2,78$ МЕТ (відмінності в порівнянні з вихідним рівнем статистично значущі, $p = 0,006$), в контрольній групі $6,52 \pm 2,43$ МЕТ (статистично значущих відмінностей в порівнянні з вихідним рівнем немає, $p = 0,440$) (статистично значущих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,311$).

Абсолютна середня різниця ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $0,91 \pm 1,85$ МЕТ (95 % ДІ 0,35; 1,47), в контрольній групі $0,07 \pm 1,31$ МЕТ (95 % ДІ - 0,32; 0,46) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,040$).

Відносна середня різниця ($\pm CB$) потужності порогового навантаження при проведенні тредміл-тесту після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $17,60 \pm 34,19$ % (95 % ДІ 7,33; 27,88), в контрольній групі $2,41 \pm 16,14$ % (95 % ДІ - 2,38; 7,20) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,044$).

Таким чином, була виявлена статистично значима різниця у збільшенні потужності порогового навантаження після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем між основною і контрольною групами як в абсолютних, так і у відносних значеннях.

Кількість нападів стенокардії за тиждень і їх динаміка

Популяція ІТТ

Середнє число (\pm CB) нападів стенокардії за останні 7 днів склало на початковому рівні в основній групі $1,49 \pm 2,54$ (медіана 0,00), в контрольній групі $1,24 \pm 1,54$ (медіана 0,00) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,969$).

5 Середнє число (\pm CB) нападів стенокардії за останні 7 днів після закінчення курсу лікування склало в основній групі $1,02 \pm 1,95$ (медіана 0,00) (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p = 0,022$), в контрольній групі $1,80 \pm 2,45$ (медіана 1,00) (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p = 0,047$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,072$).

10 Середня різниця (\pm CB) числа нападів стенокардії за останні 7 днів після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі - $0,50 \pm 2,37$ (95 % ДІ -1, 15; 0,15), в контрольній групі $0,56 \pm 2,03$ (95 % ДІ 0,02-1,11) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,003$).

15 Таким чином, можна зробити висновок, що спостерігалася статистично значима відмінність динаміки числа нападів стенокардії за тиждень після закінчення курсу лікування: тоді як середнє число нападів стенокардії в основній групі статистично значимо скоротилося, в контрольній групі число нападів статистично значимо збільшилося.

Популяція РР

20 Середнє число (\pm CB) нападів стенокардії за останні 7 днів склало на початковому рівні в основній групі $1,82 \pm 2,71$ (медіана 1,00), в контрольній групі $1,48 \pm 1,57$ (медіана 1,00) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,842$).

25 Середнє число (\pm CB) нападів стенокардії за останні 7 днів після закінчення курсу лікування склало в основній групі $1,22 \pm 2,08$ (медіана 0,00) (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p = 0,022$), в контрольній групі $2,15 \pm 2,54$ (медіана 2,00) (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p = 0,047$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,049$).

30 Середня різниця (\pm CB) числа нападів стенокардії за останні 7 днів після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі - $0,60 \pm 2,59$ (95 % ДІ - 1,38; 0,18), в контрольній групі $0,67 \pm 2,20$ (95 % ДІ 0,02-1,33) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,003$).

Таким чином, можна зробити висновок, що спостерігалася статистично значима відмінність динаміки числа нападів стенокардії за тиждень після закінчення курсу лікування: тоді як середнє число нападів стенокардії в основній групі статистично значимо скоротилося, в контрольній групі число нападів статистично значимо збільшилося.

Кількість прийнятих доз (пігулок) нітрогліцерину за тиждень і їх динаміка

35 Популяція ІТТ

Середнє число (\pm CB) пігулок нітрогліцерину, прийнятих за останні 7 днів, склало на початковому рівні в основній групі $0,71 \pm 1,15$ (медіана 0,00), в контрольній групі $0,58 \pm 0,94$ (медіана 0,00) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,733$).

40 Середнє число (\pm CB) пігулок нітрогліцерину, прийнятих за останні 7 днів, після закінчення курсу лікування склало в основній групі $0,39 \pm 0,74$ (медіана 0,00) (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p = 0,028$), в контрольній групі $0,93 \pm 1,97$ (медіана 0,00) (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,127$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,234$).

45 Середня різниця (\pm CB) числа пігулок нітрогліцерину, прийнятих за останні 7 днів, після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі - $0,33 \pm 1,06$ (95 % ДІ - 0,62; - 0,04), в контрольній групі $0,35 \pm 1,61$ (95 % ДІ - 0,09; 0,78) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,064$).

50 Таким чином, можна зробити висновок, що не виявлено статистично значимих відмінностей по числу прийнятих доз (пігулок) нітрогліцерину в динаміці після закінчення курсу між основною і контрольною групами, хоча в середньому число прийнятих пігулок статистично значимо скоротилося в основній групі і незначно збільшилося в контрольній.

Популяція РР

55 Середнє число (\pm CB) пігулок нітрогліцерину, прийнятих за останні 7 днів, склало на початковому рівні в основній групі $0,87 \pm 1,22$ (медіана 0,00), в контрольній групі $0,70 \pm 0,99$ (медіана 0,00) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,635$).

60 Середнє число (\pm CB) пігулок нітрогліцерину, прийнятих за останні 7 днів, після закінчення курсу лікування склало в основній групі $0,47 \pm 0,79$ (медіана 0,00) (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p = 0,028$), в контрольній групі $1,11 \pm 2,11$ (медіана 0,00) (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,127$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,206$).

Середня різниця (\pm СВ) числа пігулок нітрогліцерину, прийнятих за останні 7 днів, після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі - $0,40 \pm 1,16$ (95 % ДІ - 0,75; - 0,05), в контрольній групі $0,41 \pm 1,76$ (95 % ДІ - 0,11; 0,94) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,054$).

5 Таким чином, можна зробити висновок, що не виявлено статистично значимих відмінностей по числу прийнятих доз (пігулок) нітрогліцерину в динаміці після закінчення курсу лікування між основною і контрольною групою, хоча в середньому число прийнятих пігулок статистично значимо скоротилося в основній групі і незначно збільшилося в контрольній.

10 Зменшення кількості нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом

Популяція ІТТ

15 Число пацієнтів, у яких було зареєстровано зменшення числа нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом, склало в основній групі 13/55 (23,64 %), в контрольній групі - 7/55 (12,73 %) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,216$).

Таким чином, статистично значимих відмінностей між основною і контрольною групами по числу пацієнтів, у яких досягнуте зменшення числа нападів стенокардії на 50 % і більше до закінчення курсу лікування, не виявлено.

Популяція РР

20 Число пацієнтів, у яких було зареєстровано зменшення числа нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом, склало в основній групі 13/45 (28,89 %), в контрольній групі - 7/46 (15,22 %) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,186$).

25 Таким чином, статистично значимих відмінностей між основною і контрольною групами по числу пацієнтів, у яких досягнуте зменшення числа нападів стенокардії на 50 % і більше до закінчення курсу лікування, не виявлено.

Зменшення кількості споживаних пігулок (доз) нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом

Популяція ІТТ

30 Число пацієнтів, у яких було зареєстровано зменшення числа споживаних пігулок (доз) нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом, склало в основній групі 11/55 (20 %), в контрольній групі - 9/55 (16,36 %) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,805$).

35 Таким чином, статистично значимих відмінностей між основною і контрольною групами по числу пацієнтів, у яких досягнуте зменшення числа прийнятих доз нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії на 50 % і більше до закінчення курсу лікування, не виявлено.

Популяція РР

40 Число пацієнтів, у яких було зареєстровано зменшення числа споживаних пігулок (доз) нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії до закінчення курсу лікування на 50 % в порівнянні з початковим станом, склало в основній групі 11/45 (24,44 %), в контрольній групі - 9/46 (19,57 %) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,757$).

Таким чином, статистично значимих відмінностей між основною і контрольною групами по числу пацієнтів, у яких досягнуте зменшення числа прийнятих доз нітрогліцерину для купірування нападів стенокардії на 50 % і більше до закінчення курсу лікування, не виявлено.

45 Зміна рівня потік-залежної вазодилатації після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом

Популяція ІТТ

50 Середнє значення (\pm СВ) потік-залежної вазодилатації (ПЗВД) на початковому рівні в основній групі склало $19,03 \pm 25,85$ %, в контрольній групі $17,88 \pm 23,99$ % (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,552$).

Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення ПЗВД в основній групі склало $20,73 \pm 25,73$ % (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p<0,001$), в контрольній групі - $18,50 \pm 24,07$ % (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p=0,016$) (відмінності між групами на Візиті 5 статистично значимі, $p=0,018$).

55 Середня різниця (\pm СВ) показників значень ПЗВД між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі $1,51 \pm 2,52$ % (95 % ДІ 0,82; 2,20), в контрольній групі $0,62 \pm 2,52$ % (95 % ДІ - 0,06; 1,30) (відмінності між групами статистично значимі, $p=0,002$).

60 Таким чином, в основній групі спостерігалось значиме збільшення ПЗВД після закінчення курсу лікування, при цьому середнє збільшення ПЗВД в основній групі було більше вираженим, ніж в контрольній.

Популяція РР

Середнє значення (\pm СВ) потік-залежної вазодилатації (ПЗВД) на початковому рівні в основній групі склало $21,65 \pm 27,95$ %, в контрольній групі - $20,22 \pm 25,61$ % (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,732$).

5 Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення ПЗВД в основній групі склало $22,78 \pm 27,76$ % (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p < 0,001$), в контрольній групі - $20,80 \pm 25,73$ % (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,098$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p = 0,133$).

10 Середня різниця (\pm СВ) показників значень ПЗВД між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі $1,13 \pm 2,51$ % (95 % ДІ 0,37; 1,88), в контрольній групі $0,58 \pm 2,74$ % (95 % ДІ - 0,23; 1,40) (відмінності між групами статистично значимі, $p = 0,039$).

15 Таким чином, в основній групі спостерігалось статистично значиме збільшення середнього значення ПЗВД після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем, середнє збільшення ПЗВД в основній групі було також значимо більше вираженим, ніж в контрольній групі.

Зміна дисперсії QTc, кількість аритмічних подій за результатами добового моніторингу ЕКГ після закінчення 21-денного курсу лікування

Популяція ІТТ

20 На початковому рівні (Візит 0) середнє значення дисперсії QT (\pm СВ) в основній групі склало $22,98 \pm 86,35$ сек., в контрольній групі - $11,81 \pm 59,21$ сек. (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,848$).

25 Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення дисперсії QT (\pm СВ) склало в основній групі $18,59 \pm 82,49$ сек. (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,346$), в контрольній групі $12,43 \pm 57,79$ сек. (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,360$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,267$).

30 Середня різниця (\pm СВ) показників дисперсії QT між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі - $4,81 (\pm 92,90)$ сек (95 % ДІ - 30,16; 20,55), в контрольній групі $0,62 (\pm 82,66)$ сек (95 % ДІ - 21,72; 22,97) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,191$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни значення дисперсії QT після курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем.

35 На початковому рівні (Візит 0) середнє значення кількості шлуночкових порушень ритму в основній групі склало $490,85 \pm 1120,16$, в контрольній групі - $493,47 \pm 1100,80$ (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,976$).

40 Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення кількості шлуночкових порушень ритму в основній групі склало $442,63 \pm 1216,51$ (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p = 0,010$), в контрольній групі - $639,07 \pm 1355,16$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,539$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,143$).

45 Середня різниця (\pm СВ) кількості шлуночкових порушень ритму (\pm СВ) між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі - $57,31 (\pm 519,79)$ (95 % ДІ - 199,19; 84,56), в контрольній групі $145,60 (\pm 1037,12)$ (95 % ДІ - 134,77; 425,97) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,339$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни числа шлуночкових порушень ритму після курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем.

50 На початковому рівні (Візит 0) середнє значення кількості надшлуночкових порушень ритму в основній групі склало $94,24 \pm 215,73$, в контрольній групі - $226,47 \pm 497,55$ (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,983$).

55 Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення кількості надшлуночкових порушень ритму в основній групі склало $112,00 \pm 340,95$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,053$), в контрольній групі - $170,42 \pm 370,20$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,362$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,709$).

60 Середня різниця (\pm СВ) кількості надшлуночкових порушень ритму (\pm СВ) між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі $16,11 (\pm 393,90)$ (95 % ДІ - 91,40; 123,63), в контрольній групі - $56,05 (\pm 454,68)$ (95 % ДІ - 178,97; 66,86) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,652$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни числа надшлуночкових порушень ритму після курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем.

На початковому рівні (Візит 0) середнє значення кількості змішаних порушень ритму в основній групі склало $0,25 \pm 1,89$, в контрольній групі - $14,24 \pm 94,36$ (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,174$).

Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення кількості змішаних порушень ритму в основній групі склало $0,30 \pm 2,18$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 1,00$), в контрольній групі - $1,42 \pm 5,89$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,675$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,176$).

Середня різниця ($\pm CB$) кількості змішаних порушень ритму ($\pm CB$) між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі $0,04$ ($\pm 2,92$) (95 % ДІ - $0,76$; $0,83$), в контрольній групі - $12,82$ ($\pm 94,33$) (95 % ДІ - $38,32$; $12,68$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 1,00$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни числа змішаних порушень ритму після курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем.

Популяція РР

На початковому рівні (Візит 0) середнє значення дисперсії QT ($\pm CB$) в основній групі склало $27,99 \pm 94,92$ сек., в контрольній групі - $14,04 \pm 64,62$ сек. (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,790$).

Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення дисперсії QT (± 3) склало в основній групі $22,23 \pm 90,09$ сек (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,728$), в контрольній групі - $14,78 \pm 63,03$ сек. (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,267$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,417$).

Середня різниця ($\pm CB$) показників дисперсії QT між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі - $5,77$ сек ($\pm 101,93$) (95 % ДІ - $36,39$; $24,86$), в контрольній групі $0,74$ ($\pm 90,55$) сек (95 % ДІ - $26,15$; $27,63$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,306$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей зміни значення дисперсії QT між групами терапії після закінчення лікування в порівнянні з початковим рівнем.

На початковому рівні (Візит 0) середнє значення кількості шлуночкових порушень ритму в основній групі склало $534,91 \pm 1192,95$, в контрольній групі - $567,00 \pm 1188,23$ (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,971$).

Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення кількості шлуночкових порушень ритму в основній групі склало $481,29 \pm 1308,45$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,067$), в контрольній групі - $748,96 \pm 1457,15$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,788$) (відмінності між групами на Візиті 5 статистично значимі, $p = 0,046$).

Середня різниця ($\pm CB$) кількості шлуночкових порушень ритму ($\pm CB$) між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі - $53,62$ ($\pm 565,42$) (95 % ДІ - $223,49$; $116,25$), в контрольній групі $181,96$ ($\pm 1131,43$) (95 % ДІ - $154,04$; $517,95$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,450$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни числа шлуночкових порушень ритму після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем, хоча спостерігалися статистично значимі відмінності числа шлуночкових порушень ритму після закінчення курсу лікування (на Візиті 5).

На початковому рівні (Візит 0) середнє значення кількості надшлуночкових порушень ритму в основній групі склало $80,18 \pm 127,58$, в контрольній групі - $244,59 \pm 521,56$ (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,787$).

Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення кількості надшлуночкових порушень ритму в основній групі склало $129,76 \pm 371,42$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,097$), в контрольній групі - $173,37 \pm 387,24$ (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p = 0,098$) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p = 0,915$).

Середня різниця ($\pm CB$) кількості надшлуночкових порушень ритму ($\pm CB$) між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі $49,58$ ($\pm 379,66$) (95 % ДІ -

64,49; 163,64), в контрольній групі -71,22 (\pm 494,59) (95 % ДІ -218,09; 75,66) (статистично значущих відмінностей між групами немає, $p=0,849$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни числа надшлуночкових порушень ритму після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем.

На початковому рівні (Візит 0) середнє значення кількості змішаних порушень ритму в основній групі склало $0,31 \pm 2,09$, в контрольній групі - $17,02 \pm 103,13$ (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,181$).

Після закінчення курсу лікування (Візит 5) середнє значення кількості змішаних порушень ритму в основній групі склало $0,36 \pm 2,39$ (статистично значущих відмінностей в порівнянні з вихідним рівнем немає, $p=1,00$), у контрольній групі - $1,70 \pm 6,41$ (статистично значущих відмінностей в порівнянні з вихідним рівнем немає, $p=0,675$) (статистично значущих відмінностей між групами немає, $p=0,175$).

Середня різниця (\pm СВ) кількості змішаних порушень ритму (\pm СВ) між візитами після закінчення лікування і на початковому рівні склала в основній групі $0,04 (\pm 3,20)$ (95 % ДІ - 0,92; 1,01), в контрольній групі - $15,33 (\pm 103,14)$ (95 % ДІ - 45,96; 15,30) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=1,00$).

Таким чином, не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни числа змішаних порушень ритму після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем.

Оцінка якості життя за опитувачем HeartQoL і її динаміка після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з вихідним станом.

Популяція ІТТ

Середнє значення (\pm СВ) оцінки якості життя за опитувачем HeartQoL на початковому рівні в основній групі склало $1,62 \pm 1,53$ бала, в контрольній групі $1,62 \pm 0,55$ бала (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,212$).

Середнє значення (\pm СВ) оцінки якості життя за опитувачем HeartQoL після закінчення лікування в основній групі склало $1,84 \pm 0,84$ бала (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p<0,001$), в контрольній групі $1,62 \pm 0,59$ бала (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p=0,683$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p=0,143$).

Середня різниця (\pm СВ) оцінки якості життя за опитувачем HeartQoL в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $0,22 \pm 1,72$ бала (95 % ДІ - 0,26; 0,69), в контрольній групі $0,01 \pm 0,22$ бала (95 % ДІ - 0,05; 0,07) (відмінності між групами статистично значимі, $p=0,002$).

Таким чином, можна зробити висновок, що в основній групі відзначалося підвищення оцінки якості життя після закінчення курсу лікування, яке було більше вираженим в порівнянні з контрольною групою.

Популяція РР

Середнє значення (\pm СВ) оцінки якості життя за опитувачем HeartQoL на початковому рівні в основній групі склало $1,60 \pm 1,68$ бала, в контрольній групі $1,54 \pm 0,52$ бала (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,212$).

Середнє значення (\pm СВ) оцінки якості життя за опитувачем HeartQoL після закінчення лікування в основній групі склало $1,71 \pm 0,86$ бала (відмінності в порівнянні з початковим рівнем статистично значимі, $p=0,014$), в контрольній групі $1,53 \pm 0,58$ бала (статистично значимих відмінностей в порівнянні з початковим рівнем немає, $p=0,966$) (статистично значимих відмінностей між групами на Візиті 5 немає, $p=0,470$).

Середня різниця (\pm СВ) оцінки якості життя за опитувачем HeartQoL після закінчення курсу лікування склала в основній групі $0,12 \pm 1,87$ бала (95 % ДІ - 0,45; 0,68), в контрольній групі $0,00 \pm 0,19$ бала (95 % ДІ - 0,06; 0,06) (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,0061$).

Таким чином, можна зробити висновок, що в основній групі відзначалося підвищення оцінки якості життя після закінчення курсу лікування, проте зміни не були статистично значимими в порівнянні з контрольною групою.

Статистичні/аналітичні результати

Попередні і супутні захворювання. І в основній, і в контрольній групах як супутня патологія найчастіше реєструвалися порушення з боку серцево-судинної системи: у 34/55 (61,82 %) і 32/55 (58,18 %) пацієнтів, відповідно (статистично значимих відмінностей між групами немає, $p=0,846$).

Попередня і супутня терапія

Найчастіше в основній і контрольній групах як препарати супутньої терапії призначалися гіпоглікемічні препарати, окрім інсуліну, в основній групі на другому місці по частоті призначення - ацетилсаліцилова кислота.

Висновок про ефективність

Згідно з результатами проведеного аналізу в результаті оцінки первинного критерію ефективності - зміна тривалості виконуваного фізичного навантаження при проведенні навантажувального тесту по протоколу R. Bruce після закінчення 21-денного курсу лікування в порівнянні з початковим станом - в популяції по протоколу (основна популяція для аналізу первинного критерію ефективності) абсолютну зміну склало в основній групі $0,87 \pm 1,21$ (95 % ДІ 0,51; 1,23) хв, в контрольній групі $0,28 \pm 1,30$ (95 % ДІ - 0,10; 0,67) (відмінності між групами статистично значимі, $p < 0,001$). Середня відмінність між групами склала 0,589 хв (95 % ДІ 0,067; 1,111) (відмінності між групами статистично значущі).

Аналогічні результати з досягненням статистично значимої різниці між групами на користь комбінованої терапії були отримані в популяції ІТТ.

Протоколом було встановлено, що висновок про ефективність комплексної терапії (ФК і стандартна терапія), що перевищує, в основній групі в порівнянні із застосуванням тільки стандартної терапії буде зроблений на підставі наявності позитивних статистичних значимих відмінностей між групами по первинній змінній ефективності на користь основної групи. Це дозволяє зробити висновок про те, що спосіб, при якому вводять досліджувану ФК, розчин оральний, на тлі стандартної терапії перевищує по ефективності дотримання тільки стандартної терапії відносно тривалості виконуваного фізичного навантаження.

Додатково, статистично значущі відмінності були отримані при аналізі відносного збільшення часу фізичного навантаження, який склав в основній групі $23,89 \pm 39,27$ % (95 % ДІ 12,10; 35,69), в контрольній групі $8,29 \pm 25,49$ % (95 % ДІ 0,72; 15,85) в популяції РР і в основній групі $24,32 \pm 36,64$ % (95 % ДІ 14,31; 34,32), в контрольній групі $6,51 \pm 24,04$ % (0,01; 13,01).

При оцінці додаткових параметрів ефективності було виявлено статистично значимо більше число пацієнтів, у яких збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження склало 1 хвилину після закінчення 21-денного курсу лікування, в групі комбінованої терапії в порівнянні із стандартною терапією (38,89 % і 14,55 % пацієнтів, відповідно) в популяції ІТТ. У популяції по протоколу відмінності між групами (37,78 % і 17,39 %, відповідно) не досягли статистичної значущості.

Не було виявлено статистично значимих відмінностей між числом пацієнтів, у яких збільшення тривалості виконуваного фізичного навантаження склало 2 хвилини після закінчення 21-денного курсу лікування, між основною і контрольною групами ні в популяції РР (13,33 % і 6,52 % пацієнтів, відповідно), ні в популяції ІТТ (14,81 % і 5,45 % пацієнтів, відповідно).

Була виявлена статистично значима відмінність між групами терапії відносно збільшення пікового споживання кисню після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем: в популяції РР зміна склала в основній групі $1,72 \pm 4,48$ мл/хв/кг (95 % ДІ 0,38; 3,07), в контрольній групі $0,69 \pm 3,63$ мл/хв/кг (95 % ДІ - 0,39; 1,77); в популяції ІТТ в основній групі $2,16 \pm 4,40$ мл/хв/кг (95 % ДІ 0,96; 3,36), в контрольній групі $0,49 \pm 3,38$ мл/хв/кг (95 % ДІ - 0,42; 1,41). Аналогічно, статистично значимі відмінності між групами були виявлені при аналізі відносної зміни пікового споживання кисню: в основній групі $18,19 \pm 51,66$ % (95 % ДІ 2,67; 33,72), в контрольній групі $9,16 \pm 36,87$ % (95 % ДІ - 1,79; 20,11) (у популяції РР) і в основній групі $18,93 \pm 47,58$ % (95 % ДІ 5,95; 31,92), в контрольній групі $7,25 \pm 34,03$ % (95 % ДІ - 1,95; 16,45) (у популяції ІТТ).

Була виявлена статистично значима відмінність між групами терапії відносно збільшення потужності порогового навантаження після 21-денного курсу лікування: значення склало в основній групі $0,91 \pm 1,85$ MET (95 % ДІ 0,35; 1,47), в контрольній групі $0,07 \pm 1,31$ MET (95 % ДІ - 0,32; 0,46) (у популяції РР) і в основній групі $1,15 \pm 1,85$ MET (95 % ДІ 0,64; 1,65), в контрольній групі $0,06 \pm 1,20$ MET (95 % ДІ - 0,26; 0,38) (у популяції ІТТ). Аналогічно, статистично значимі відмінності між групами були виявлені при аналізі відносного збільшення потужності порогового навантаження: в основній групі $17,60 \pm 34,19$ % (95 % ДІ 7,33; 27,88), в контрольній групі $2,41 \pm 16,14$ % (95 % ДІ - 2,38; 7,20) (у популяції РР) і в основній групі $20,53 \pm 32,80$ % (95 % ДІ 11,58; 29,48), в контрольній групі $2,02 \pm 14,76$ % (95 % ДІ - 1,97; 6,01) (у популяції ІТТ).

Спостерігалася статистично значима відмінність динаміки числа нападів стенокардії в тиждень після закінчення курсу лікування в обох популяціях аналізу: тоді як середнє число нападів стенокардії в основній групі статистично значимо скоротилося (середня зміна склала - $0,60 \pm 2,59$ (95 % ДІ - 1,38; 0,18) в популяції РР і - $0,50 \pm 2,37$ (95 % ДІ -1, 15; 0,15) в популяції ІТТ), в контрольній групі число нападів статистично значимо збільшилося (середня зміна склала $0,67 \pm 2,20$ (95 % ДІ 0,02-1,33) в популяції РР і $0,56 \pm 2,03$ (95 % ДІ 0,02-1,11) в популяції ІТТ).

При цьому не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно числа пацієнтів, у яких число нападів стенокардії в тиждень скоротилося на 50 % після курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем. Цей результат може бути пов'язаний з тим, що на початковому рівні середнє число нападів стенокардії в тиждень було відносно невелике.

Не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії по числу прийнятих пігулок нітрогліцерину в тиждень ні в одній з популяцій аналізу.

Також не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії по числу пацієнтів, у яких досягнуте зменшення числа пігулок нітрогліцерину, що приймаються, в тиждень на 50 % після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем.

В основній групі спостерігалось статистично значиме збільшення середнього значення ПЗВД після закінчення курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем, середнє збільшення ПЗВД в основній групі було також значимо більше вираженим, ніж в контрольній групі: середня різниця значення ПЗВД склала в основній групі $1,13 \pm 2,51$ % (95 % ДІ 0,37; 1,88), в контрольній групі $0,58 \pm 2,74$ % (95 % ДІ - 0,23; 1,40) в популяції РР і в основній групі $1,51 \pm 2,52$ % (95 % ДІ 0,82; 2,20), в контрольній групі $0,62 \pm 2,52$ % (95 % ДІ - 0,06; 1,30) в популяції ІТТ.

Не було виявлено статистично значимих відмінностей між групами терапії відносно зміни значення дисперсії QT, зміни числа шлуночкових порушень ритму, зміни числа надшлуночкових порушень ритму і змішаних порушень ритму після курсу лікування в порівнянні з початковим рівнем ні в одній з популяцій аналізу.

В основній групі при аналізі в популяції ІТТ відзначалося підвищення оцінки якості життя за опитувачем HeartQoL після закінчення курсу лікування, яке було більше вираженим в порівнянні з контрольною групою: середня різниця оцінки якості життя в порівнянні з початковим рівнем склала в основній групі $0,22 \pm 1,72$ бала (95 % ДІ - 0,26; 0,69), в контрольній групі $0,01 \pm 0,22$ бала (95 % ДІ - 0,05; 0,07) (відмінності між групами статистично значимі, $p=0,002$). У популяції по протоколу також відзначалося підвищення оцінки якості життя після закінчення курсу лікування, проте зміни не були статистично значимими в порівнянні з контрольною групою.

Результати проведеного дослідження дозволяють зробити висновок, що комбінована терапія, що застосована у запропонованому способі, у якому вводять фармацевтичну композицію, на тлі стандартної терапії перевершує за ефективністю дотримання тільки стандартної терапії у пацієнтів з ішемічною хворобою серця, при цьому комбінована терапія має прийнятний профіль безпеки, порівнянний із застосуванням тільки стандартної терапії.

Підсумовуючи дані клінічного дослідження, можна зробити висновок, що запропонований спосіб, у якому вводять фармацевтичну композицію у формі орального розчину на основі двох активних речовин – аргініну та левокарнітину, підвищує ефективність комплексної терапії ішемічної хвороби серця, поліпшує якість життя хворих за рахунок зниження частоти нападів стенокардії.

Наведене вище свідчить про те, що запропонований спосіб є вискоефективним і перспективним для впровадження в медичну практику як способу амбулаторного лікування ішемічної хвороби серця та її наслідків, стабільної стенокардії напруження, атеросклерозу периферичних судин, дозволяє розширити асортимент способів лікування ІХС, стабільної стенокардії напруження, атеросклерозу периферичних судин, поліпшити якість життя хворих з ІХС, стабільної стенокардії напруження, атеросклерозу периферичних судин за рахунок зниження частоти нападів стенокардії.

Наведені приклади здійснення запропонованого способу лише ілюструють його і ніяк не обмежують.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб лікування хронічної ішемічної хвороби серця або стабільної стенокардії напруги, або атеросклерозу периферичних судин у людини, яка страждає хронічною ішемічною хворобою серця або стабільною стенокардією напруги, або атеросклерозом периферичних судин, при якому згаданій людині вводять фармацевтичну композицію, яка містить як активний компонент сіль аргініну та воду, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка має таку лікарську форму як оральний розчин, як сіль аргініну містить аргініну аспартат, додатково містить як активний компонент левокарнітин, додатково містить такі допоміжні компоненти, як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач і консервант, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	180-320
левокарнітин	50-150
коригент рН, який є підкислювачем	1,5-6,0

підсолоджувач	0,4-1,2
консервант	0,5-2,0
вода	до 1 мл,

причому фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для лікування хронічної ішемічної хвороби серця, стабільної стенокардії напруження, атеросклерозу периферичних судин.

- 5 2. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	240-300
левокарнітин	80-120
коригент рН, який є підкислювачем	2,5-4,5
підсолоджувач	0,6-1,0
консервант	1,0-1,5
вода	до 1 мл.

3. Спосіб за п. 3, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	264
левокарнітин	100
коригент рН, який є підкислювачем	3
підсолоджувач	0,8
консервант	1
вода	до 1 мл.

- 10 4. Спосіб за будь-яким із пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить як коригент рН, який є підкислювачем, яблучну кислоту.

5. Спосіб за будь-яким із пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить як підсолоджувач сахаринат натрію.

- 15 6. Спосіб за будь-яким із пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить як консервант метилпарагідроксибензоат або пропілпарагідроксибензоат або суміш метилпарагідроксибензоату та пропілпарагідроксибензоату.

7. Спосіб за будь-яким із пп. 1-6, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить як воду - воду для ін'єкцій.

- 20 8. Спосіб за будь-яким із пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка має щільність 1,1 г/мл, рН розчину 5-6,5, динамічну в'язкість при 20 °С 2,5 сП.

9. Спосіб за будь-яким із пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що фармацевтичну композицію вводять у складі комплексної терапії хронічної ішемічної хвороби серця, стабільної стенокардії напруження, атеросклерозу периферичних судин.

- 25 10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-9, який **відрізняється** тим, що фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є добовою дозою, 20-40 мл.