

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ



**Государственное учреждение
Научно-производственный центр
«Институт фармакологии и биохимии Национальной
академии наук Беларуси»**

Экспериментальная и клиническая фармакология

Материалы
3-й международной научной конференции

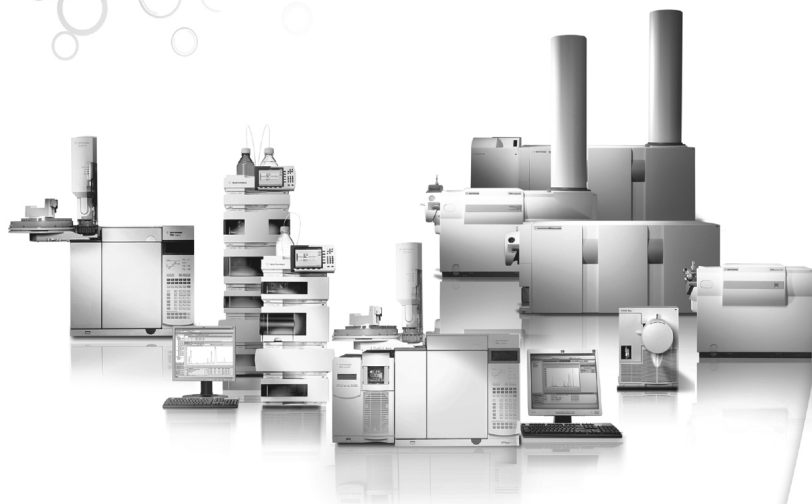
Минск, 23-24 июня 2009 г.

Минск 2009



KAMPILAB

Газовые и жидкостные хроматографы, масс-спектрометры, спектрофотометры, ICP-MS, капиллярный электрофорез, амплификаторы, атомно-силовая микроскопия
компании Agilent Technologies



ООО «КАМПИЛАБ»
220018, г. Минск, ул. Шаранговича, 19-345
тел./факс: +375 17 259-09-78, 259-07-77
www.campilab.by
campilab@campilab.by



Agilent Technologies

— *Authorized Distributor*

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР
«ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И БИОХИМИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ
ФАРМАКОЛОГИЯ**

Материалы
3-й международной научной конференции

Минск, 23–24 июня 2009 г.

Минск
2009

УДК 615.015+615.03+615.017(063)
ББК

Редакционная коллегия:

П.Т. Петров (ответственный редактор),
Д.И. Романовский, Б.В. Дубовик, М.К. Кевра

ISBN

В сборник включены тезисы докладов, представленных на 3-ю международную научную конференцию «Экспериментальная и клиническая фармакология», отражающие результаты исследований ученых из Беларуси, России, Украины, Германии.

Материалы конференции представляют интерес для фармакологов, биохимиков, физиологов, медицинских работников и организаторов здравоохранения, специалистов в области технологии и производства лекарственных препаратов, а также преподавателей, аспирантов и студентов факультетов медико-биологического профиля.

УДК 615.015+615.03+615.017(063)
ББК

©Государственное учреждение
«Научно-производственный центр
«Институт фармакологии и биохимии
Национальной академии наук Беларуси», 2009
ISBN

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ В БЕЛАРУСИ

Кевра М.К.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Клиническая фармакология – медицинская наука, которая изучает действие лекарственных средств на организм человека. Основными ее задачами являются: обучение студентов, клинических ординаторов и аспирантов; проведение клинических испытаний лекарственных препаратов; консультативная помощь различным специалистам при проведении фармакотерапии конкретных пациентов, а также повышение квалификации врачей в области лекарственной терапии.

Развиваться клиническая фармакология в нашей стране начала в 1973 году с организации циклов лекций для клинических ординаторов в Минском государственном медицинском институте (МГМИ). Чтение лекций на общественных началах было поручено ассистенту кафедры фармакологии, кандидату медицинских наук Кевра М.К., который имел достаточный клинический опыт работы врача-терапевта. В сентябре 1983 преподавание клинической фармакологии для студентов началось в рамках типовых учебных планов. В 1984 году в МГМИ был создан Отдельный курс клинической фармакологии на базе 4-й городской клинической больницы г. Минска. В последующие годы преподавание клинической фармакологии было организовано в Витебском, Гродненском и Гомельском медицинских институтах. В 1993 году в связи с увеличением численного состава студентов Отдельный курс клинической фармакологии МГМИ был преобразован в кафедру клинической фармакологии, которую возглавил доцент Кевра М.К.

В настоящее время в нашей стране функционирует только одна отдельная кафедра клинической фармакологии – в Белорусском государственном медицинском университете. В других медицинских университетах клиническая фармакология преподается для студентов на кафедрах общей фармакологии (Витебск, Гомель) или терапии (Гродно).

Изучение фармакодинамики лекарственных средств в клинических условиях с целью разработки методов эффективного и безопасного применения их для терапии различных заболеваний в нашей стране традиционно проводилось врачами-специалистами различного профиля. По международным правилам клинические испытания лекарственных препаратов впервые начали проводить клинические фармакологи МГМИ в начале 90-х годов XX столетия. Официально международные стандарты проведения клинических испытаний, так называемые правила GCP (Good Clinical Practices – Качественная Клиническая Практика) были утверждены приказами Министерства здравоохранения Республики в 1999 году. В настоящее время клинические испытания новых лекарственных средств, а также уже известных препаратов по новым показаниям проводятся в лечебно-профилактических учреждениях нашей страны с соблюдением правил GCP.

Всем известно, что успешное лечение пациентов в настоящее время немислимо без глубоких знаний врачами клинической фармакологии, которая в последние десятилетия очень бурно развивается. В клиническую практику ежегодно внедряется много новых лекарственных препаратов, часто с ранее неизвестными фармакологическими характеристиками. Практические врачи должны постоянно пополнять свой багаж знаний по новым лекарственным средствам, а также

совершенствовать свои знания по уже известным препаратам, у которых выявляются неизвестные ранее фармакологические свойства и, соответственно, расширяются показания к применению. Существующая в Республике Беларусь система повышения квалификации врачей путем обучения на 2-х недельных циклах один раз в 5 лет не может в полной мере обеспечить получение новых знаний по клинической фармакологии.

Улучшить положение дел с постоянным повышением квалификации врачей в лекарственной терапии призвана клинико-фармакологическая служба, которая создана приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 1049 от 17.11.2008г «О создании службы клинической фармакологии». В штатное расписание больничных и поликлинических организаций здравоохранения вводится должность врача- клинического фармаколога, в функциональные обязанности которого вменено не только оказание консультативной помощи различным специалистам при проведении фармакотерапии у конкретных пациентов, но и повышение квалификации врачей в области лекарственной терапии путем обучения непосредственно на рабочих местах в лечебно-профилактических учреждениях.

Клиническая фармакология – молодая наука, но она уже завоевала авторитет среди врачей, которые не только осознали ее важность для своей практической деятельности. Они всё чаще изъявляют желание не только повышать свои знания по вопросам лекарственной терапии, но и стать врачами-клиническими фармакологами.

АМИНОКИСЛОТЫ КАК ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА: ОТ НАУЧНЫХ ДОСТИЖЕНИЙ К КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Мараховский Ю.Х.

*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск,
Беларусь*

Существует точка зрения, как среди ученых, так и среди врачей практиков и организаторов здравоохранения (особенно в Республике Беларусь), что использование аминокислот, или их композитов, в терапии и профилактике заболеваний является неестественным вариантом, и не обладает достаточной терапевтической или профилактической эффективностью. Сторонники такой точки зрения на значение аминокислот, для обоснования этой точки зрения, указывают на то, что аминокислоты это не лекарства, что лучше съесть пищевой продукт, чем принять сами аминокислоты.

В то же время, необходимо отметить наличие публикаций, касающихся анализа международного рынка по аминокислотам. Такие аналитические публикации включают в себя маркетинговый анализ по аминокислотам в США, Канаде, Японии, Европе, Азиатско-Тихоокеанскому региону, Ближнему Востоку и Латинской Америке. В них однозначно отмечено возрастание рынка по аминокислотам с увеличением количества компаний, занимающихся аминокислотами. К 2005 г насчитывается 53 таких компании. При этом, только в США в 2004г рынок по аминокислотам составил около 1,1 миллиардов долларов.

В одном из аналитических обзоров по аминокислотам (Business Communi-

cations Company Inc.- BCC) указывается следующее: «Коммерческий интерес к аминокислотам является прямым результатом увеличивающегося понимания многих функций, которые эти вещества выполняют в организме людей и животных. Как результат понимания этих функций и свойств, отмечаются быстро расширяющиеся перспективы инновационных заявлений по использованию аминокислот».

При этом, в одном из последних маркетинговых аналитических обзоров (Amino Acids: Highlighting Synthesis Applications (2008, Report Code: BIO024B), имеется отдельный раздел, посвященный фармацевтическому применению аминокислот, из которого следует, что наибольший, ежегодный прирост рынка по использованию аминокислот характерен для сектора биотехнологий и фармацевтического использования.

Цель. Представить аналитический обзор по научным разработкам лекарственных средств на основе аминокислот, с акцентом на их использование в клинической практике.

Материал и методы. Информация, включенная в данное сообщение за период 2000-2007гг, получена из серии источников представителей отдельных компаний, правительственных и международных организаций, официальных статистических данных, прежде всего таких как: European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations; WHO EUROMEDSTAT and medical product and medicines (www.euromedstat.cnr.it); National Drug Scheduling Advisory Committee USA; FDA Food and Drug Administration, HHS, USA; Food and Drugs with Health Canada; DSM Group: серия аналитических обзоров по фармацевтическим рынкам России и стран СНГ), с использованием следующих основных ключевых слов amino acids, specialty uses, medical, therapeutic, research, industrial applications и их сочетаний. В анализ включались публикации из следующих баз данных – PubMed, MedLine, BIOS, Toxi-Net, с использованием 12 ключевых слов и их сочетаний, но с акцентом на поисковую систему «MeSH Categories», базы данных PubMed.

Результаты (основные). Научные достижения по аминокислотам. За оцениваемый промежуток времени (2000-2007гг) было проведено около 25 международных обсуждений (конгрессы, конференции, семинары) вопросов, связанных напрямую с аминокислотами.

Кроме того, проведены более тематические международные симпозиумы: по незаменимым разветвленным аминокислотам (“Branched-Chain Amino Acid Symposium” 2005) во Франции, по глутамину (2000 “Glutamine Symposium”) и аргинину (2004 “Arginine Symposium”), симпозиум по ароматическим аминокислотам (Symposium on Aromatic Amino Acids 2006) в Канаде. В США симпозиум по S-аденозилметионину «S-Adenosylmethionine (SAME): from Molecular Mechanism to Clinical Implications», 2001.

Исследования по оценке лимитирующего значения аминокислот для активного синтеза белка показали, что такими ключевыми, лимитирующими аминокислотами, являются: валин, лейцин, изолейцин (BCAA), метионин и треонин, особенно при инфузионном введении на глюкозе.

Энзиматическое метилирование цитозина ДНК является одним из важнейших составляющих обеспечивающих сохранность взаимодействия ДНК с белками, и активное или неактивное состояние ДНК. Гипометилирование ДНК может привести к нестабильности хромосом и мутациям. Гипометилирование и связанные

с ним мутации описаны при развитии рака толстой кишки и желудка. Высказана гипотеза: процесс репарации ДНК в клетке является одним из значимых для обеспечения полноценного функционирования клетки (здоровая клетка - это клетка в состоянии равновесия между индуцируемыми мутациями ДНК и репарацией ДНК). Опубликованные данные о воздействии активного деривата метионина (S-Adenosyl-L-methionine - SAMe) на метилирование ДНК, позволяют позиционировать SAMe в качестве кандидата для фармакологического управления репарацией ДНК и профилактики неоплазм.

Разнообразие функционального значения аргинина показано в таблице 1.

Таблица 1

Уточненное значение аргинина для некоторых систем организма

Циркуляторная система	Эндокринная система	Другие системы
Усиление сократительной способности миокарда	Индукция секреции инсулина	Активация цикла мочевины
Увеличение пролиферации эндотелия сосудов	Стимуляция секреции гормона роста	Повышение чувствительности клеток к инсулину
Индукция эндотелина -1	Стимуляция секреции глюкагона	Усиление метаболизации аммиака в цикле мочевины
Повышение адгезивности лейкоцитов	Увеличение секреции пролактина	Повышение образования пролина
Уменьшение тромбоцитов крови		Повышение образования полиаминов
Уменьшение продукции гидроперекисей		Повышение образования креатина

Серия публикаций по регуляции функции клеток позволила установить критические точки в этом процессе, прежде всего, значение mTOR. mTOR - особая форма протеинкиназы, обнаруженная преимущественно в цитоплазме клеток, которая имеет ключевое значение в обеспечении многих биологически важных процессов: от клеточной пролиферации и ангиогенеза, до аутофагии. mTOR проявляет регуляторное действие преимущественно через трансляционные механизмы клеток, которые являются ответственными за синтез белка. Показано, что разветвленные незаменимые аминокислоты (валин, лейцин, изолейцин - BCAA) оказывают выраженный модулирующий эффект на mTOR в печени и мышцах.

Использование аминокислот в качестве фармакологических средств в клинической практике. В поисковой системе PubMed с введением ключевых слов amino acids + pharmacology "Amino Acids/pharmacology"[Mesh] обнаруживается всего 174 965 публикаций, из них 7104 обзора. Из этих публикаций за период 2000-2007гг значится 2 780 публикаций. Более того, из общего числа публикаций, 8861 - это клинические

исследования, 101 - систематических обзоров с мета анализом (поиск по словам: "Amino Acids/pharmacology"[Mesh] Limits: Meta-Analysis). При сочетании поисковых слов "Amino Acids/pharmacology"[Mesh] Limits: Practice Guideline, обнаружено 18 практических рекомендаций. При сочетании "Amino Acids/pharmacology"[Mesh] Limits: Randomized Controlled Trial, 4696 рандомизированных плацебо контролируемых исследований.

Можно лишь коротко перечислить некоторые направления исследований по фармакологическим свойствам аминокислот: фармакологические свойства фенилаланина, аденозил метионин при депрессии, эффект таурина на артериальное давление, ацетил цистеин как гепатопротектор, иммуномодулирующее действие лизина, аргинина при эндотелиальной дисфункции и заживлении язв кожи, действие аргинина на агрегацию тромбоцитов, терапевтический потенциал триптофана, глутамин как средство для восстановления пищевого потенциала, гистидин при ревматоидном артрите, действие ВСАА на метаболизм лекарств, повреждение и инфекцию, положительный эффект лизина при герпетической инфекции, терапия депрессии фенилаланином, фенилаланин и энкефалины как фармакологические агенты, аденозилметионин как антидепрессант, лечение остеопороза аденозил метионином, таурин в лечении сердечной недостаточности, воздействие таурина на алкогольную зависимость, Допа и триптофан в терапии болезни Паркинсона.

В поисковой системе PubMed с введением ключевых слов "Amino Acids/therapeutic use"[Mesh] обнаруживается всего 66 834 публикаций, из них 7104 обзора. Из этих публикаций за период 2000-2007гг значится 1301 публикация. Более того, из общего числа публикаций, 10421 - это клинические исследования Limits: Clinical Trial, 169 - систематических обзоров с мета анализом (поиск по словам: "Amino Acids/therapeutic use"[Mesh]Limits: Meta-Analysis). При сочетании "Amino Acids/therapeutic use"[Mesh], Limits: Randomized Controlled Trial, 5578 рандомизированных плацебо контролируемых исследований. Далее отметим лишь небольшую часть этих публикаций, которые находятся в области интересов автора этого сообщения.

Опубликованные данные свидетельствуют о положительном эффекте ВСАА при включении их в лечение циррозов печени, при этом, степень доказательности лечебного эффекта разветвленных незаменимых аминокислот (ВСАА) при циррозах печени, отнесена к 2(В) (высокий уровень по принципам доказательной медицины): в соответствии с мультицентровыми, рандомизированными, контролируемыми исследованиями 2003 и 2005гг, использование ВСАА при циррозах печени на протяжении 1-2 лет обеспечивает значительное увеличение выживаемости и снижение риска осложнений. Имеющийся мета-анализ 11 рандомизированных, контролируемых исследований доказал, что назначение ВСАА при циррозах печени значительно уменьшает проявления и прогрессирование осложнений. Установлено наличие защитного эффекта у ВСАА на развитие сакропении у лиц пожилого и старческого возраста. Показан положительный эффект ВСАА при почечной патологии у пациентов, находящихся на диализе. Японскими авторами установлено положительное действие смеси ВСАА и аргинина на уровень артериального давления: снижение через 5 недель на 5-7 мм Hg.

Особо следует отметить две публикации. Публикацию 2006г (Muto Y, et all Hepatol Res. 2006 Jul;35(3):204-14). Авторы обнаружили, что в группе с приемом ВСАА (per os) имеется достоверное уменьшение риска развития рака печени, даже

при наличии таких факторов риска как избыточная масса и высокий уровень альфа фетопротейна крови. Публикацию 2008г (Kobayashi M, et all. J Gastroenterol 2008;43:63-70). Эта публикация результатов клинического испытания гранулированной формы аминокислот на протяжении 168 недель, по фазе II. Авторы показали следующее: не обнаружено развитие декомпенсации цирроза печени, отмечено более редкое развитие рака печени в группе леченной ВСАА. Авторы указывают в заключении, что примененные ВСАА может ингибировать печеночный канцерогенез у пациентов с компенсированным циррозом печени.

Обсуждение. В серии научных и клинических публикаций, как и в официальных документах, четко и однозначно закреплены фармакологические свойства аминокислот, и доказано, что аминокислоты относятся к лекарственным препаратам. Аминокислоты входят в классификацию лекарственных средств и представляют разнообразные подгруппы из группы А16АА – аминокислоты и их производные (А16АА - Amino acids and derivatives) по АТХ классификации лекарственных средств. Аминокислоты так же относятся к классу V – прочие лекарственные средства, группе V06 - препараты для питания, подгруппа V06DD - аминокислоты, включая комбинации с полипептидами, и подгруппа V06DE - аминокислоты /углеводы/ минералы/витамины/комбинации.

На сайте Европейского Союза (<http://www.euromedstat.cnr.it/>) можно обнаружить следующие данные: по группе А16АА – аминокислоты и их производные зарегистрирована серия лекарственных веществ, например в Италии- Glutarginina, в Португалии - Dynamisan – G, Asparten 5. В этой группе значатся так же: А16АА01 - Levocarnitine, А16АА02- Ademetionine, А16АА03 - Glutamine, А16АА04- Mercaptamine, А16АА05 - Carglumic acid, А16АА06 - Betaine.

Располагая полноценным анализом научных данных по аминокислотам, нами с 2004г начаты активные собственные работы по разработке лекарственных средств на основе аминокислот.

В настоящее время мы располагаем следующими собственными данными. Доказательством низкой токсичности валина, лейцина, изолейцина, глицина, дипептида глицил-глицина и триглицината, орнитин-аспартата, аргинина.

Нами доказано, что ВСАА оказывают корректирующее действие на проявления мальнутриции у экспериментальных животных с моделью хронического диффузного поражения печени (ХДЗП).

Разработано три лекарственных средства на основе аминокислот: раствор ВСАА для инфузий, гранулят ВСАА для энтерального применения, таблетки триглицината.

Доказано, что применение гранулята ВСАА у экспериментальных животных с ХДЗП оказывает положительный эффект в виде компенсации мальнутриции, с удержанием массы тела животных на значениях контрольной группы и сохранением прибавки массы тела, стабилизация массы органа мишени токсиканта – печени. Кроме того, отмечается выраженный положительный эффект препарата на все основные гематологические показатели, которые изменились в группе с моделированием ХДЗП, при этом их изменения аналогичны тем, которые отмечаются в клинической практике у пациентов с фиброзом-циррозом печени.

На модели ХДЗП, индуцированной введением этанола, дополнительное введение гранулята ВСАА сопровождается менее выраженным цитолизом и менее выраженными микроморфологическими изменениями печени и внутренних органов.

Применение триглицидата при алкогольном стеатогепатите оказывает существенное положительное действие проявляющиеся: нормализацией АЛАТ крови, снижением уровня триглицеридов крови, уменьшением накопления триглицеридов в печени, тенденцией уменьшения степени стеатоза печени по гистологической оценке.

Получены новые данные по фармакокинетике L-орнитин- L-аспартата при параллельной оценке кинетики орнитина и сопряженных с метаболизмом орнитина аминокислот – аргинина и цитруллина. Эти данные позволяют дать более детальную характеристику действия L-орнитин- L-аспартата, уточнить особенности его метаболизма, эффективность и безопасность.

Выводы. Разработки по аминокислотам являются перспективными и важными для практического здравоохранения республики.

ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР ФОТОЛОН – ОТ НАУЧНОЙ ИДЕИ ДО ПРАКТИЧЕСКОЙ РЕАЛИЗАЦИИ

Петров П.Т.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Активное развитие метода фотодинамической терапии (ФДТ) и внедрение его в различные медицинские сферы, в первую очередь онкологию, а затем офтальмологию, гинекологию, урологию, стоматологию и др. связано с появлением в последнее время высокоэффективных фотосенсибилизаторов (ФС) и мощных лазерных источников монохроматического света. Метод ФДТ приобрел важное практическое значение в качестве альтернативного и безальтернативного подхода к лечению ряда заболеваний.

В 60-е годы прошлого столетия были разработаны первые ФС на основе гематопорфиринов (фотофрин I, фотофрин II и значительно позже – фотогем). Эти препараты представляют собой сложную смесь димеров, тримеров и олигомеров нескольких порфиринов. ФС этого ряда присущ ряд недостатков, основным из которых является высокая фототоксичность, которая может сохраняться до 12 недель после лечения. ФДТ с фотофрином обеспечивает лечение опухолей неглубокой локализации из-за недостаточно длинноволновой полосы поглощения (630 нм) и низкого молярного коэффициента экстинкции ($\epsilon \sim 3000 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$). Кроме того, олигомерный состав гематопорфиринов трудно воспроизвести; соотношение и содержание активных компонентов существенно варьирует в зависимости от технологии производства и условий хранения препарата, т.е. неустойчивая технология и нестабильный препарат. В настоящее время хорошо изучены ФС второго поколения (производные фталоцианина, производные бензопорфиринов, мезотетрагидроксифенил хлорина и др.). Однако фототоксичность этих соединений остается высокой, невысока степень накопления в опухолевых тканях, низкая контрастность, длительный период выведения ФС из организма пациента. Для снижения токсичности, повышения селективности накопления в патологических тканях и фотосенсибилизирующей активности за счет генерации синглетного кислорода и цитотоксических радикалов в настоящее время используют различные методы, в частности, химическую модификацию пигментов,

создания липосомальных форм, комплексирования пигмента с моноклональными антителами против опухоли ассоциированных антигенов.

В нашей работе по созданию ФС фотолон [1,2] был использован метод получения молекулярных комплексов с высокомолекулярным полимером [3].

Основным компонентом (пигментом) в разработанном нами ФС является хлорин e_6 , в качестве комплексообразующего полимера выбран поливинилпирролидон (ПВП) с $M_w = 12 \cdot 10^3$.

Разработанная технология, использующая в качестве исходного сырья *Sperulina platensis*, позволяет получить хлорин e_6 , высокой степени чистоты [4,5] – содержание хлорина e_6 выше 91 % и 4-5 % этилового эфира хлорина e_6 . Оба соединения обладают идентичными фотофизическими свойствами: спектры поглощения с длинноволновой полосой поглощения в области 655-670 нм, высокий квантовый выход триплета флуоресценции 0,16-0,22. В силу этого субстанция обладает дополнительными преимуществами при их совместном присутствии (синергизм). Этерификация одной из карбоксильных групп изменяет гидрофобные свойства этилового эфира по отношению к исходному хлорину e_6 . Полученный компонентный состав, включающий соединения, обладающие различными гидрофильно-гидрофобными свойствами, обеспечивает высокий цитотоксический эффект за счет использования нескольких механизмов транспорта сенсibilизатора, а также различного включения в ткани (локализация во внутри- и межклеточном пространстве опухоли). Наличие гидрофобной компоненты увеличивает время накопления, оптимизирует фармакокинетику накопления и выведения.

Нами была разработана лекарственная форма фотолон в виде лиофилизированного порошка, представляющего молекулярный комплекс хлорина e_6 и ПВП в соотношении 1:1, комплекс стабилен, срок хранения его более двух лет.

Запатентованы ФС на основе молекулярного комплекса при соотношении компонентов от 1:1 до 1:20 (Патент ЕС).

Именно образование комплекса обеспечило новые свойства ФС и преимущества фотолону в отношении хлорина e_6 . Известно, что хлорин e_6 способен к ассоциации в водных растворах. Мы установили, что комплексообразование e_6 -ПВП препятствует агрегации e_6 в водной среде и приводит к увеличению квантового выхода хлорина e_6 , а следовательно, возрастает генерация синглетного кислорода и других цитотоксических частиц, что будет способствовать повышению степени некроза опухолей. Кроме того, комплекс обладает высокой туморотропностью.

Доклинические исследования фотолон были выполнены в Институте онкологии и медицинской радиологии им. Александрова под руководством проф. Жаврида Э. А. Была исследована степень накопления препарата в опухолевых тканях на моделях саркомы M I и альвеолярного рака печени крыс RS I. Изучена кинетика накопления и выведения. Исследованы характеристики некроза опухолей при воздействии лазерного излучения с длиной волны 670 нм. Изучены специфические и неспецифические виды токсичности ($LD_{50} = 182,5$ мг/кг), а также фототоксичность. Объем доклинических исследований соответствовал международным требованиям.

Предрегистрационные клинические испытания были выполнены на двух базах: Институт онкологии и медицинской радиологии им. Александрова и РМНЦ (г. Обнинск) по изучению эффективности и безопасности препарата фотолон при ФДТ злокачественных опухолей у 112 пациентов с новообразованиями кожи и слизистых

оболочек. В исследовании принимало участие 57 мужчин и 55 женщин в возрасте от 31 до 86 лет. Средний возраст больных составил $62,5 \pm 12,6$ лет. Было пролечено 90 больных с раком кожи (84 – с базальноклеточным раком кожи, 5 – с плоскоклеточным раком кожи, 1 – с метатипическим раком кожи), 10 больных с раком губы, 6 больных с метастазами в кожу молочной железы, одна больная с раком вульвы.

При проведении ФДТ злокачественных опухолей кожи и слизистых оболочек ФС вводили в дозе 2-2,5 мг/кг массы тела больного. Для этого рассчитанную дозу фотолон растворяли в 100 мл физиологического раствора и вводили внутривенно капельно в течение 30 минут за 3-4 часа до сеанса лазерного облучения. Лазерное облучение проводили при максимальном накоплении ФС в опухолевой ткани. Плотность мощности лазерного излучения была 200-300 мВт/см². Световая доза облучения составляла от 100 до 200 Дж/см². В качестве источника монохроматического света использовали полупроводниковые лазеры с длиной волны излучения 660 нм (Биоспект, Ламеда) [6].

По результатам клинических испытаний фотолон был зарегистрирован в МЗ РБ и разрешен к применению в 2001 г., в 2004 г. зарегистрирован в МЗ РФ как средство для фотодинамической терапии злокачественных образований кожи и слизистых. Патент РФ с приоритетом 1999 г. получен в июле 2000 г., патент РБ – через 3 года в июле 2003 г.

В плане расширения сферы применения фотолон сотрудниками калужского филиала МНТК «Микрохирургии глаза» и кафедры офтальмологии БГМУ были выполнены работы по ФДТ неоваскуляризации роговицы глаза с фотолоном в эксперименте на животных. Успешные экспериментальные данные позволили в дальнейшем начать проведение сеансов ФДТ у пациентов с миопической макулопатией (ММ) и центральной инволюционной хориоидальной дистрофией (ЦИХД). Фотолон применяли в дозе 6 мг/м² тела пациента, ФС вводили внутривенно со скоростью 3 мл/мин в течение 10 минут. Лазерное облучение проводили через 15-20 мин. после начала введения. Плотность мощности составляла 600 мВт/см², доза облучения – 50 Дж/см². Для достижения необходимой дозы облучения требовалось около 83 сек. В ходе испытаний в Минске было пролечено 30 пациентов, в том числе 20 пациентов с возрастной экссудативной субфовеальной хориоидальной неоваскуляризацией при миопатии, а также 10 пациентов с ЦИХД с преимущественно классической хориоидальной неоваскуляризацией [7,8]. Эффективность терапии оценивали через 12 месяцев. В 70 % случаев глаз больных ЦИХД и в 30 % случаев больных ММ острота зрения сохранилась, в остальных случаях в сроки от 7 дней до 3 месяцев после лечения произошло повышение визуса.

Полученные в клинических исследованиях результаты позволяют делать вывод, что ФДТ стабилизируют остроту зрения у больных при наличии СНМ при ЦИХД или ММ, а ряде случаев приводит к ее повышению в пределах 0,01-0,1.

Применение ФДТ в гинекологии привело к появлению перспективного органосохраняющего метода. Известно, что рак шейки матки имеет длительный период развития и хорошо распознаваемую преклиническую фазу – цервикальные интраэпителиальные неоплазии (ЦИН). ФДТ ЦИН основана на применении ФС, избирательно накапливающихся в пораженной ткани, и лазерного излучения с определенной длиной волны, при которой цитотоксичность многократно возрастает, что приводит к образованию в зоне воздействия фотохимического некроза ткани.

В работах д.м.н. Истомина Ю.П. и Лапцевич Т.П. (Институт онкологии и радиологии им. Александрова) и в работах Российских гинекологов (РМНЦ-Обнинск, Уфа) показано, что ФДТ с фотолоном является высокоэффективным органосохраняющим методом лечения женщин репродуктивного возраста с ЦИН II-III степени. В работах Лапцевич Т.П. [9] полная регрессия была достигнута у 77 больных (94 %), частичная у 2 (2 %) и стабилизация процесса у 3 (4 %) при медиане наблюдения 16,5 месяцев после внутривенного введения фотолон и фотооблучения экто- и эндоцервикса на всем протяжении его длины.

Доза фотолон 2-2,5 мг/кг массы тела. В течение 3-4 дней пациентки соблюдали световой режим. Сочетание в одной процедуре возможностей диагностики и терапии, отсутствие формирования рубцовой ткани, короткие сроки репаративных процессов, сохранение анатомической целостности шейки матки, менструальной и репродуктивной функций у женщин молодого возраста определяют целесообразность использования ФДТ с фотолоном в практическом здравоохранении при лечении больных ЦИН II-III степени. Выраженных побочных эффектов не наблюдалось. У 13 женщин после лечения и выздоровления была определена беременность.

Результаты, полученные в экспериментах на животных (крысах-опухоленосителях, саркома М I и альвеолярный рак печени крыс RS-I) по исследованию биораспределения ФС фотолон во внутренних органах и тканях животных позволили установить фармакокинетические характеристики накопления фотолон в печени, почках, селезенке, мочевом пузыре, мышцах. Особый интерес вызвали результаты по накоплению фотолон в головном мозге крыс после однократного введения в дозе 5 мг/кг. Было показано, что препарат легко проникает через интактный гематоэнцефалический барьер. Через 45-60 мин после в/в введения препарата в головном мозге наблюдается максимальный уровень накопления ФС ($2883,9 \pm 334,6$ отн. ед.), сопоставимый с максимальным уровнем содержания фотолон в печени и почках. Затем содержание фотолон в головном мозге резко снижается. Через 6 часов после введения препарата обнаруживаются следовые количества препарата. Эти данные легли в основу клинических исследований при нейрохирургических операциях по удалению злокачественных глиом мозга. Работы проводились сотрудниками кафедры нейрохирургии БГМУ и 9 клинической больницы г. Минска.

В рамках нашей совместной работы (2005 г.) с сотрудниками Челябинского государственного института лазерной терапии было прооперировано более 50 больных с глиальными опухолями различной локализации, диагноз верифицирован КТ, МРТ и гистологическими исследованиями. После удаления опухоли проводили ФДТ с фотолоном. В ходе операции удаляли опухолевую ткань в пределах неизменной мозговой ткани, после чего осуществляли облучение ложа удаленной опухоли. Фотолон вводили перед интубацией трахеи у пациента и началом общей анестезии. Доза составляла 2,5 мг/кг массы больного. Облучение проводили через световод диаметром 600 мкм, сканирующими движениями, диаметр светового пятна 1 см, расстояние от стенки полости 5 мм. Плотность энергии составляла 300 Дж/см². Течение послеоперационного периода оценивали с учетом динамики очаговой и общемозговой симптоматики. Осложнений и побочных эффектов не отмечено. Во всех случаях отмечен быстрый регресс общемозговой и очаговой симптоматики.

В настоящее время на кафедре стоматологии БГМУ успешно завершаются клинические испытания фотолон как средства для ФДТ парадонтов. Стоматология

станет еще одной сферой, внедряющей перспективный малоинвазивный метод – ФДТ.

Успехи ФДТ напрямую связаны с появлением новых фотосенсибилизаторов. Поэтому наша ближайшая задача – создание ФС с инфракрасной длиной волны поглощения света, что обеспечит еще большую глубину проникновения света в органы и ткани, позволит подойти к решению проблемы лечения меланомы.

Литература:

1. Патент РФ № 2152790. Средство для фотодинамической диагностики и терапии онкологических заболеваний. Патентообладатели Мещерякова А.Л., Петров П.Т., опублик. 20.07.99 // 2000. – № 20 – С.

2. Патент РБ № 5651. Средство для фотодинамической терапии злокачественных новообразований – фотолон / Петров П.Т. и др. Дата публикации 30.12.2003 г.

3. Isakau H.A., Parkhats M.V., Knyukshto V.N., Dzhagarov B.M., Petrov E.P., Petrov P.T. Toward understanding the high PDT efficacy of chlorin e6-polyvinylpyrrolidone formulations: Photophysical and molecular aspects of photosensitizer-polymer interaction *in vitro* // J. Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2008. – 92. P. 165-174.

4. Isakau H.A., Trukhachova T.V., Zhebentyaev A.I., Petrov P.T. HPLC study of chlorin e6 and its molecular complex with polyvinylpyrrolidone // Biomed. Chromatogr. – 2007. – 21. – P. 318-325.

5. Isakau H.A., Trukhachova T.V., Petrov P.T. Isolation and identification of impurities in chlorin e6 // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2007. – 45. – P. 20-29.

6. Петров П.Т. и др. Фотолон – средство для фотодинамической терапии и диагностики. Опыт клинического применения // Вестник фармации. – 2007. – № 3 (37). – С. 69-81.

7. Белый Ю.А., Терещенко А.В., Володин П.Л., Каплан М.А., Бродский Р.А., Банзурко Л.Н., Пупкова Т.Н., Петров П.Т. Фотодинамическая терапия экспериментально-индуцированной неоваскуляции рогавицы с препаратом фотолон // Офтальмология. – 2006. – № 4. – С. 37-41.

8. Зорин В.П., Зорина Т.Е., Кравченко И.Е., Далидович А.А., Марченко Л.Н., Петров П.Т. Биофизические основы применения лазерной фотодинамической терапии с фотолоном в офтальмологии // Доклад на VII международной конференции «Лазерная физика и оптические технологии». – Минск, 17-19 июня, 2008.

9. Lapzevich T.P., Istomin Y.P., Trukhachova T.V., Petrov P.T. New organ-saving regimen of PDT for treatment precancerous cervical lesions with Fotolon // Photodynamic Diagnosis and Therapy in Clinical Practice. 6-th International Symposium – Brixen (Italy), 10-14 october, 2006.

ВЛИЯНИЕ КАРОТИНОИДОВ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И АПОПТОЗ КЛЕТОК В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ СОЧЕТАННОМ ВВЕДЕНИИ С НИТРАТОМ СВИНЦА

Анисович М.В., Морозова Е.В., Николаевич Л.Н.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Каротиноиды, выполняя в организме преимущественно функцию мощных антиоксидантов, могут оказывать влияние на самые различные процессы, связанные как с делением и гибелью клеток, так и с активацией защитных систем организма [1,2].

Целью работы являлось изучение влияния ликопина и β -каротина на фоне экспозиции нитрата свинца на пролиферацию и апоптоз клеток различной функциональной специализации в организме животных.

Работа выполнена на 190 крысах (самцы и самки) линии Wistar в возрасте 2,5 месяца и средней массой 200 г. Животных содержали при 12-часовом световом режиме, на стандартном брикетированном корме, при свободном доступе к воде (экспериментально-биологическая клиника ИФБ НАН Беларуси). Использовали 10% суспензию ликопина и 30% суспензию β -каротина на кукурузном масле («DSM Nutritional Products Ltd», France). Суспензии ликопина вводили в дозах 1, 2 и 5 мг/кг, β -каротина – 15 мг/кг в течение 14 дней. Водный раствор нитрата свинца вводили в дозе 80 мг/кг. Контрольные животные получали кукурузное масло. Образцы проб ДНК клеток крови, костного мозга, тимуса и селезенки проанализированы методом проточной цитофлуориметрии на Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, USA). Оценивали частоту апоптоза и распределение клеток по стадиям клеточного цикла (G_1 , S, G_2 +M).

Установлено, что ликопин влияет на частоту апоптоза в тканях животных. В крови самок при дозах 1 и 2 мг/кг ликопина снижается частота апоптоза на 50%, при дозе 5 мг/кг ликопина – на 77% по сравнению с контролем. При сочетанном введении ликопина (в дозах 1 и 5 мг/кг) и нитрата свинца частота апоптотических клеток в крови снижается на 60-67% по сравнению с контролем. В костном мозге отмечается снижение частоты апоптоза на 34% при введении крысам 2 мг/кг ликопина и на 35-50% – при сочетанном введении ликопина (во всех дозах) и нитрата свинца. Отмечается увеличение доли апоптотических клеток в селезенке самок крыс при введении ликопина в дозах 1 и 5 мг/кг, в то время как при сочетанном действии нитрата свинца и ликопина (в дозах 2 и 5 мг/кг) снижается частота апоптоза спленоцитов в селезенке. В клетках тимуса не выявлено достоверных изменений частоты апоптоза при введении ликопина.

Было показано, что у животных, которым во время экспериментов вводили нитрат свинца, пролиферация клеток ($S+G_2+M$) в селезенке и костном мозге возрастает на 70-100% по сравнению с контролем.

Установлено ингибирующее действие ликопина на пролиферацию клеток костного мозга и крови животных. Ликопин во всех дозах снижает пролиферацию клеток крови самцов крыс на 55-65%, самок (дозы 2 и 5 мг/кг) – на 65% и 93% соответственно. В костном мозге самок крыс при дозах 2 и 5 мг/кг ликопина уменьшается пролиферация клеток на 31% и 44% соответственно.

Показано, что β -каротин оказывает ингибирующее действие только на

пролиферацию клеток крови: наблюдается при раздельном и сочетанном (β -каротин и нитрат свинца) действии снижение пролиферации.

При сочетанном введении нитрата свинца и каротиноидов пролиферация клеток крови снижается до контрольного уровня у самцов крыс, получавших ликопин в дозе 1 мг/кг и β -каротин в дозе 15 мг/кг. Отмечено, что только в сочетании с β -каротином ликопин в дозах 1 и 5 мг/кг достоверно снижает пролиферацию клеток селезенки по сравнению с контролем. У самцов исследуемая композиция каротиноидов снижает пролиферацию клеток селезенки на 60% (доза ликопина 1 мг/кг) и 76% (доза ликопина 5 мг/кг), у самок – на 45% (доза ликопина 5 мг/кг). Сочетанное введение композиций каротиноидов и нитрата свинца уменьшает долю пролиферирующих клеток в селезенке самок крыс до контрольных значений. Пролиферация клеток тимуса и костного мозга не изменялась по сравнению с уровнем в контроле.

Таким образом, показано, что ликопин и β -каротин могут снижать частоту апоптоза и нивелировать отрицательное действие нитрата свинца на пролиферацию клеток только в крови, костном мозге и селезенке животных. Следует отметить, что раздельное и сочетанное действие ликопина и β -каротина тканеспецифично. Ликопин, благодаря своему разнонаправленному действию на клеточные процессы, может оказаться эффективным средством профилактики и защиты генома соматических клеток различной функциональной специализации от нарушений, вызванных действием тяжелых металлов на организм.

Литература:

1. Feng-Yao T., Chung-Jin S. et al. Lycopene inhibits growth of human colon cancer cells via suppression of PI-3K/Akt signaling pathways/ T. Feng-Yao [et al.]// Proc Amer Assoc Cancer Res. – 2006. – V. 47 – P. 46-51.
2. Ben-Dor, A. Steiner, M. Carotenoids activate the antioxidant response element transcription system/ A. Ben-Dor [et al.]// Mol. Cancer Ther. – 2005. – V. 4. – P. 177-186.

INFLUENCE OF CAROTINOIDS ON CELL PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN RAT TISSUES UNDER LEAD NITRATE COMBINED ADMINISTRATION

Anisovich M.V., Morozova E.V., Nikolaevich L.N.

Institute of pharmacology and biochemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Brlarus

The influence of lycopene and β -carotene on proliferation and apoptosis of cells various functional specialization under lead nitrate exposition in animal organism was studied. Lycopene and β -carotene were shown to reduce apoptosis frequency and ameliorate lead nitrate unfavorable impact on cell proliferation in animal blood, bone marrow and spleen. Lycopene due to the manifold action on cellular processes can be appeared an effective mean of prevention and protection of somatic cells of various functional specialization genome against abnormalities caused by heavy metals action on organism.

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СЕЛЕКТИВНЫХ М- И Н-ХОЛИНОБЛОКАТОРОВ

*Байрамов А.А., Полетаева А.О., Юкина Г.Ю., Прошин С.Н., Шабанов П.Д.
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия*

Большинство факторов, воздействующих на развивающийся мозг в эмбриональном периоде, нарушают формирование (онтогенез) основных нейромедиаторных систем, прежде всего моноаминов и ацетилхолина, что показывает высокую чувствительность мозга в критические периоды своего развития в перинатальном периоде к воздействию внешних факторов среды. Перинатальные манипуляции активностью некоторых медиаторных систем, в частности холинергической системы (никотином, инсектицидами), приводят к различным структурно-функциональным изменениям в развивающемся головном мозге [1, 2].

Целью данной работы явилось изучение воздействия селективных блокаторов М- и Н-холинергической системы на динамику развития нейромедиаторных систем головного мозга 20-дневных эмбрионов крыс после введения препаратов в различные сроки пренатального периода.

Беременным самкам крыс линии Вистар в 9-11, 12-14 и 17-19 дни гестации производили трехразовые внутримышечные инъекции (1 раз в день) холинотропных препаратов центрального действия – М-холинолитика метамизила (2 мг/кг) или Н-холинолитика ганглерона (12 мг/кг) [2]. На 20 день беременности проводили извлечение и декапитацию плодов (головной мозг без мозжечка замораживали в жидком азоте). Концентрацию дофамина (ДА), серотонина (5-НТ) и их метаболитов в головном мозге плодов крыс определяли методом ВЭЖХ-ЭД в системе Beckman System Gold с электрохимическим детектором LC-4С [3].

Пренатальное воздействие холинотропными препаратами центрального действия метамизилом и ганглероном вызывает дисбаланс содержания нейромедиаторов ДА, 5-НТ и их метаболитов в головном мозге эмбрионов опытных групп к 20-му дню пренатального развития по сравнению с контролем. Модуляция активности как М-холинергической, так и Н-холинергической системы развивающегося мозга плода может привести к значительным изменениям в активности основных медиаторных систем мозга. Соответственно, механизмы пренатального воздействия различных химических факторов с холинотропными свойствами могут быть опосредованы как М-холинергической, так и Н-холинергической системой. Сравнительный анализ показал, что к воздействию холинолитиков в пренатальном периоде более чувствительна серотонинергическая медиаторная система в сравнении с дофаминергической. Снижение концентрации 5-НТ и изменение его оборота отмечается на всем протяжении второй половины периода беременности при воздействии как метамизилом, так и ганглероном. Было отмечено, что ДА-ергическая система головного мозга у генотипических самцов и самок эмбрионов более чувствительна к воздействию Н-холинолитика ганглерона. Более значительные изменения медиаторного статуса отмечается в ранние сроки гестационного периода (10-е и 13-е сутки) у плодов различного генетического пола. Пренатальная экспозиция М-холинолитика метамизила не оказала существенного влияния на содержание ДА в головном мозге эмбрионов как мужского, так и женского пола. В то же время следует отметить определенную тенденцию к снижению уровня ДА в исследуемых группах.

Таким образом, пренатальное воздействие М- и Н-холинолитиков в раннем онтогенезе оказывает неблагоприятный эффект на обмен нейромедиаторов в головном мозге 20-дневных эмбрионов крыс. Данные настоящего исследования предполагают, что изменение холинергической нейрональной активности в пренатальном периоде различными препаратами, обладающими холинотропными свойствами, может стать причиной нарушения половой дифференцировки мозга в неонатальном периоде и поведенческих нарушений в пубертатном возрасте.

Литература:

1. Байрамов А.А., Мещеров Ш.К. Отдаленные нейрохимические эффекты пренатального воздействия селективных М- и Н-холинотропных препаратов // Психофармакол. и биол. наркол. 2008. Т.8, № 1. С. 2286–2293.

2. Байрамов А.А., Прошин С.Н., Поletaева А.О., Ефремов О.М., Сапронов Н.С. Половая функция зрелых самцов после пренатальной модификации холинергической системы // Рос. физиол. журнал. им. И.М.Сеченова. 2008. Т.94, №5. С.581-591.

3. Bairamov A.A., Efremov O.M., Senchik K.J., Losev N.A., Sapronov N.S. Cholinergic modulation of sexual behavior after stress: Neurochemical correlations // Eur. J. Neuropsychopharmacol. 2005. V. 15, Suppl.2. P.176-177.

NEUROCHEMICAL CONSEQUENCES OF PRENATAL EXPOSURE TO SELECTIVE AND N-CHOLINOBLOCKERS

Bairamov A.A., Poletayeva A.O., Yukina G.Yu., Proshin S.N., Shabanov P.D.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

Pregnant Wistar rats were injected three times with cholinergic drugs (M-cholinoblocker methamizil 2 mg/kg or N-cholinoblocker gangleron 12 mg/kg i.m. once a day) on 9-12, 12-14 and 17-19 days of gestation. On the 20th day of pregnancy the extraction and decapitation of embryos were carried out (the brain without cerebellum was freezed in liquid nitrogen). The concentrations of dopamine (DA), 5-hydroxytryptamine (5-HT) and their metabolites were examined with HPLC-ED in the Beckman System Gold with an electrochemical detector.

The prenatal exposure of pregnant rats to both cholinergic drugs (methamizil and gangleron) induced imbalance in DA, 5-HT and their metabolites contents in the embryo brain on the 20th day. The comparative analysis revealed that the 5-HT-ergic neurotransmitter system was more sensitive to cholinergic drugs in comparison with the DA-ergic system. The reduced level of 5-HT and change of its turnover were detected throughout the second period of pregnancy after the exposure to mathamizil and gangleron. The DA-ergic system of the embryo brain (both genotypic males and females) was more sensitive to the exposure to the N-cholinoblocker gangleron. More significant changes in neurotransmitter status were seen at the early period of gestation (10 and 13 days) in embryos of different genetic gender. The prenatal exposure to methamizil did not affect the DA level in the embryo brain both in males and in females. The tendency to decreasing the DA content was revealed at the same time. Therefore, the prenatal exposure of pregnant rats to cholinergic drugs in early ontogeny induces imbalance in the neurotransmitter systems of the 20 - day embryo brain. The data suggested that the change in cholinergic neuronal activity in prenatal period

with cholinergic drugs can lead to disturbed sexual differentiation at neonatal period and behavioral disorders at pubertate age.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ, ХЛОРПРОПАМИДА И АЦИЗОЛА ПРИ АППЛИКАЦИИ ТРАНСДЕРМАЛЬНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Басок Ю.Б., Саломатина Л.А., Алексеева О.С., Зайцева М.А., Севастьянов В.И.

ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова

Минздравсоцразвития, Москва, Россия;

Институт медико-биологических исследований и технологий, Москва, Россия

Трансдермальные терапевтические системы (ТТС) являются дозированными лекарственными формами, обеспечивающими проникновение лекарственных веществ (ЛВ) через кожу в кровоток. Чрескожная доставка является аналогом внутривенного капельного введения ЛВ. Она обеспечивает постоянную концентрацию препарата в крови, минуя желудочно-кишечный тракт и первичный контакт с печенью, что снижает вероятность возникновения отрицательных побочных эффектов, и является более легким способом применения [1].

В результате проведенных исследований разработанных нами матричных ТТС ацетилсалициловой кислоты (АСК), хлорпропамида и ацизола в условиях *in vitro* была доказана принципиальная возможность чрескожного переноса перечисленных субстанций [2]. Однако прямых доказательств наличия АСК, хлорпропамида и ацизола в крови в терапевтических концентрациях при трансдермальном их введении в условиях *in vivo* не было.

Изучение фармакокинетики ацизола при трансдермальном и традиционном введении выполняли на беспородных половозрелых крысах массой 180–220 г. Каждую временную точку исследовали на 6 животных. 90 животных было использовано для изучения трансдермального введения и 90 – для внутримышечного введения. Для чрескожного введения применяли ТТС с содержанием ацизола 100 мг. Исследования фармакокинетики АСК и хлорпропамида проводили на кроликах породы Шиншилла массой от 2,75 до 3,25 кг. Животные были разделены на две группы по 6 особей. Первой группе животных препараты вводили однократно перорально, второй – трансдермально в дозах: АСК – 50 мг/кг; хлорпропамид – 5 мг/кг. При трансдермальном и традиционном введении дозы были одинаковы. Забор крови производился до введения препарата, а также в дискретные интервалы времени в течение 24–30 часов.

Анализ концентрации лекарственных веществ в плазме крови экспериментальных животных производился с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в линейном градиентном режиме элюирования с предварительной пробоподготовкой.

Фармакокинетические параметры рассчитывали модельно-независимым способом с помощью методов интегральных моментов [3].

При проведении фармакокинетического исследования ТТС АСК было показано, что применение трансдермального способа введения АСК в дозе 50 мг/кг обеспечивает в течение суток концентрацию ЛВ в системном кровотоке экспериментальных

животных (кролики породы Шиншилла), равную 10 нг/мл. Величина периода полувыведения и среднего времени удержания АСК для трансдермальной формы (n=6) в 4,3 раз больше, а относительная биодоступность в 8,7 раза выше, чем при пероральном приеме (n=6).

В ходе исследования фармакокинетики хлорпропамида при использовании ТТС установили, что при аппликации ТТС хлорпропамида на кожу кроликов постоянная концентрация ЛВ в крови поддерживается в течение не менее 27 часов. При одинаковой биодоступности величина периода полувыведения и среднее время удержания ЛВ в организме для трансдермальной формы хлорпропамида (n=6) в 1,7 раза больше, чем для пероральной формы (n=6). При этом максимальная концентрация хлорпропамида в крови после аппликации ТТС хлорпропамида в 2,5 раза меньше по сравнению с пероральным способом введения.

В результате изучения фармакокинетики ТТС ацизола было выявлено, что величина периода полувыведения и среднее время удержания ацизола при его трансдермальном введении половозрелым беспородным белым крысам (n=90) в 5 раз, а относительная биодоступность в 22,3 раза больше, чем при внутримышечном введении (n=90).

Таким образом, проведенные исследования показали, что:

- Трансдермальное введение АСК, хлорпропамида и ацизола обеспечивает их постоянную концентрацию в крови до 27 часов с момента аппликации.
- При использовании трансдермальных терапевтических систем величина периода полувыведения и среднее время удержания исследованных ЛВ в организме выше, чем при традиционных способах введения.
- Максимальные концентрации АСК, хлорпропамида в крови после аппликации ТТС ниже, а ацизола выше, по сравнению с традиционными способами введения.
- В случае чрескожного введения биодоступность АСК и ацизола увеличилась в 8,7 и 22,3 раза соответственно, по сравнению с традиционными способами их введения.

Литература:

1. Scheindlin S. Transdermal drug delivery: PAST, PRESENT, FUTURE. *Mol Interv.*; 4(6):308-12, 2004.
2. Севастьянов В.И., Саломатина Л.А., Тихобаева А.А., и др. Полиакрилатная композиция для трансдермальной доставки лекарственных веществ. Перспективные материалы. – М., - 2004. – №1. – С. 46-53.
3. Агафонов А.А., Пиотровский В.К. Программа M-IND оценки системных параметров фармакокинетики модельно-независимым методом статистических моментов. *Хим.-Фарм. журнал.* – М., - 1991. – № 10. – С. 16-19.

DRUG PHARMACOKINETICS DURING TRANSDERMAL DELIVERY SYSTEM APPLICATION

Basok J.B., Salomatina L.A., Alekseeva O.S., Zaitceva M.A., Sevastianov V.I.
Federal Research Centre of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russia;
Institute of Medical and Biological Research and Technologies, Moscow, Russia

Acetylsalicylic acid, chlorpropamide and acizol pharmacokinetics was studied during transdermal delivery system application. It was demonstrated that the transdermal administration of examined medicines provides constant drug concentration in blood for a prolonged time interval (up to 27 hours). The elimination half-life and mean residence time during transdermal drug delivery systems application were higher in comparison with the traditional routes of drug administration. Acetylsalicylic acid and chlorpropamide peak plasma concentrations were higher and acizol plasma concentration was significantly equal in comparison with the traditional routes of drug administration. Acetylsalicylic acid and acizol bioavailability increased by 8.7 and 22.3 times, accordingly, and chlorpropamide bioavailability was significantly the same in case of the transdermal administration as compared with the traditional routes of medicine administration.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ СУКЦИНАТОМ НАТРИЯ И ФОСФОКРЕАТИНОМ ОСТРЫХ ТЯЖЕЛЫХ ОТРАВЛЕНИЙ НИТРИТОМ НАТРИЯ

Башарин В.А., Носов А.В., Тарумов Р.А.
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Универсальным патологическим процессом, возникающим при острых отравлениях различными химическими веществами, является гипоксия [1,2]. При гипоксии развивается каскад реакций, приводящих к несостоятельности энергетического обеспечения в клетках. Последовательно развивающаяся в условиях гипоксии инактивация комплексов митохондриальных ферментов сопровождается переходом на энергетически менее выгодный анаэробный путь, который в дальнейшем угнетается за счет развивающегося ацидоза. На конечном этапе патологического процесса происходит истощение уровня и нарушение синтеза макроэргов. На стадии декомпенсации отмечается линейное падение концентрации АТФ, сопровождающееся появлением продуктов деградации адениловых нуклеотидов. Снижение уровня АТФ вызывает угнетение многих АТФ-зависимых процессов в клетках.

Сложный генез развивающихся при гипоксии расстройств требует их своевременной и адекватной фармакологической коррекции. Одним из актуальных направлений коррекции гипоксических состояний является применение препаратов, прямо или косвенно участвующих в энергетическом обмене клеток [3].

При отравлении нитритом натрия гипоксия играет ключевую роль в генезе интоксикации. Острые отравления нитритом натрия сопровождаются развитием гемической гипоксии из-за образующегося метгемоглобина. В дальнейшем гипоксия принимает смешанный характер.

Целью исследования было изучение возможности коррекции тяжелого отравления

нитритом натрия веществами, принимающими участие в энергетическом обмене.

Экспериментальное исследование проведено на белых беспородных крысах–самцах массой 160–220 г из питомника РАМН Рапполово.

На первом этапе исследования была разработана модель тяжелой гемической гипоксии при остром отравлении нитритом натрия. Среднесмертельная доза после введения для нитрита натрия составила 70 мг/кг. Животным вводили нитрит натрия внутривенно в дозах 0,3 ЛД₅₀, 0,8 ЛД₅₀ и 1,0 ЛД₅₀. Через 1, 3, 6, и 24 часа оценивали содержание метгемоглобина в артериальной крови, взятой из брюшной аорты у наркотизированных тиопенталом натрия животных. Определение метгемоглобина проводили спектрофотометрическим методом М.С. Кушаковского.

На разработанной модели тяжелой гемической гипоксии, которая развивалась при введении среднесмертельной дозы нитрита натрия, изучалась эффективность субстратов энергетического обмена. В качестве средств коррекции нарушений энергетического обмена использовались эквивалентные дозы (5 ммоль/л) сукцината натрия и фосфокреатина, а также комплексный препарат цитофлавин (эквивалентные дозы по янтарной кислоте). Препараты вводили интраперитонеально через 1 ч после введения токсиканта – на фоне максимальной метгемоглобинемии. Животные контрольной группы получали 0,9 % раствор хлорида натрия. В каждой группе было по 8 животных.

Острая интоксикация нитритом натрия сопровождалась дозозависимым повышением количества метгемоглобина в крови. Через 1 час после инъекции токсиканта в дозе 0,8 ЛД₅₀ содержание метгемоглобина составило более 50% от общего гемоглобина. К 6 часу исследования содержание деривата гемоглобина составляло 7%, а к концу 1 суток не отличалось от контроля. Через 1 час после введения нитрита натрия в среднесмертельной дозе содержание метгемоглобина составляло 67,5±1,8%, что расценивалось как тяжелая гипоксия.

Животным после введения токсиканта в дозе ЛД₅₀ через 1 час были введены препараты, принимающие участие в энергетическом обмене. Клиника отравления у животных после введения препаратов существенно не отличалась от животных контрольной группы. Летальность животных в исследуемых группах, получавших субстраты энергетического обмена, достоверно не отличалась от контроля.

Таким образом, применение в монотерапии препаратов фосфокреатина, сукцината натрия и цитофлавина не оказывало существенного положительного эффекта на фоне острого тяжелого отравления нитритом натрия.

Литература:

1. Куценко С.А. Основы токсикологии / С.А. Куценко. – СПб.: ООО «Изд-во Фолиант», 2004. – 720 с.
2. Лужников Е.А. Острые отравления / Е.А. Лужников, Л.Г. Костомарова. – М.: Медицина, 2000. – 434 с.
3. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетические механизмы формирования гипоксических

состояний и подходы к их фармакологической коррекции // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. – М., 1989. – С. 11–45.

EXPERIMENTAL THERAPY OF SODIUM NITRITE ACUTE HEAVY POISONINGS BY ADMINISTRATION OF SODIUM SUCCINATE AND PHOSPHO-CREATINE

Basharin V.A., Nosov A. V., Tarumov R. A.
Medical Military Academy, St.-Petersburg, Russia

The administration of Neoton, sodium succinate or Cytoflavine monotherapy does not render of significant medical effect at the experimental acute heavy poisoning by sodium nitrite.

УТОЧНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕЗАМЕНИМЫХ РАЗВЕТВЛЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ НА СИНДРОМ МАЛЬНУТРИЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ДИФФУЗНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПЕЧЕНИ

Василевская С.А., Калачик В.П., Горгун Ю.В., Карасева Г.А., Уласевич Д.Н.,
Мараховский Ю.Х.
Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

Разветвленные незаменимые аминокислоты (валин, лейцин, изолейцин – ВСАА) широко используются в клинической практике при хронических диффузных заболеваниях печени (ХДЗП). Однако при оценке их эффективности практически не учитывается влияние ВСАА на синдром мальнутриции, который сопровождает ХДЗП.

Цель исследования - уточнить влияние ВСАА на проявления мальнутриции при экспериментальном моделировании ХДЗП.

Эксперименты проведены на нелинейных белых крысах линии стадного разведения с массой тела 180–250 г, содержащихся в условиях стационарного вивария. Моделирование ХДЗП инициировали введением тетрахлорметана (ТХМ) внутривентриально 2 раза в неделю из расчета 0,08 мл/100 г массы тела животного. Оценку осуществляли через 30 и 60 суток. В эти сроки белых крыс забивали путем декапитации с соблюдением принципов биоэтики (в соответствии со стандартами GLP) на фоне тиопенталового наркоза. В крови определяли: концентрацию общих липидов (ОЛ), общего холестерина (ОХ), общего белка (ОБ), мочевины, креатинина, глюкозы, билирубина, активность ферментов - щелочной фосфатазы (ЩФ), аспартат- и аланинаминотрансферазы (АсАТ, АлАТ), γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Дополнительно проводили стандартные анализ мочи и гематологический анализ крови. Фрагменты печени фиксировали в растворе Карнуа с последующей окраской микропрепаратов на гликоген (ШИК-реакция), суданом черным В на липиды. Оценку микропрепаратов проводили с помощью светового

микроскопа с программным обеспечением (производитель Leica, Германия). Микропрепараты печени оценивали с использованием градационной оценки METAVIR. Аминокислоты (валин + лейцин + изолейцин в виде раствора) вводили в трех дозах: 25 мг/кг массы, 250 мг/кг (доза, обычно рекомендуемая в клинике) и 2500 мг/кг. Выделены следующие экспериментальные группы: ТХМ-индуцированное ХДЗП (ТХМ), ТХМ-индуцированное ХДЗП с введением ВСАА (ТХМ+ВСАА) и контрольная группа (КО). Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA-6.

У животных с моделью ТХМ формируется фиброз цирроз (по данным морфологической оценки) в сочетании с синдромом мальнутриции, проявляющимся отсутствием прибавки массы тела животных на протяжении всего периода моделирования ХДЗП: прирост массы тела составил минус 14,4% (95% ДИ=16,7-12,1), отношение массы печени к массе тела – 4,4 (95% ДИ=3,9-4,8), отношение массы селезенки к массе тела – 0,61 (95% ДИ=0,42-0,81), отличия достоверны ($p < 0,05$). Летальность составила при ТХМ 13,3%, в группе ТХМ+ВСАА – 0% ($\text{Chi-square}=3,44$, $p=0.05$). Колебания (ДИ 95%) общего белка (г/л) составили: у интактных животных 62–71, в группе ТХМ 32–61, у животных с ТХМ+ВСАА 68–75, что свидетельствует о гипопроteinемии в группе ТХМ, с одной стороны, и положительном действии ВСАА на уровень белка крови, с другой стороны.

При сопоставлении других биохимических показателей группы ТХМ с группой ТХМ+ВСАА и контролем обнаружено, что в группе ТХМ+ВСАА имеет место стабилизация на уровне контрольной группы следующих показателей: прирост массы тела составил 20,3% (95% ДИ=8,7-31,9), в контроле 22,6% (95% ДИ=12,3-32,9), общий белок – 72,3 (95% ДИ=69,0-75,7), против 65,5 (95% ДИ=61,9-69,2) при ТХМ, мочевины – 4,1 (95% ДИ=3,5-4,6), против 8,8 (95% ДИ=7,8-9,8) при ТХМ, глюкоза – 6,7 (95% ДИ=6,3-7,0) против 9,5 (95% ДИ=9,3-9,7) при ТХМ, холестерин – 1,0 (95% ДИ=0,8-1,1) против 1,9 (95% ДИ=1,6-2,2) при ТХМ. При морфологическом исследовании печени существенных отличий между ТХМ и ТХМ+ВСАА не установлено.

Заключение: 1) введение разветвленных аминокислот не ухудшает морфологическую картину повреждения печени гепатотоксикантом при формировании экспериментальной модели ХДЗП и повышает выживаемость; 2) введение препарата не влияет на интенсивность цитолиза и холестаза, но оказывает благоприятный эффект на уровень общего белка, мочевины, глюкозы и холестерина крови; 3) введение ВСАА компенсирует синдром мальнутриции у животных с экспериментальной моделью ХДЗП.

AN ELABORATION OF INFLUENCE OF BRANCHED-CHAIN AMINO ACIDS ON MALNUTRITION IN PATIENTS WITH CHRONIC LIVER DISEASE

Vasilevskaya S.A., Kalachyk V.P., Gorgun U.V., Karaseva G.A., Ulasevich D.N., Marahovsky U.H.

Belarussian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

This work is deals with evaluation of the influence of branched-chain amino acids on patients suffering from chronic liver disease with the malnutrition syndrome.

Three groups of laboratory rats were compared each other: in the first one cirrhosis was

simulated with tetrachloromethane (TCM) injections, the second group combined TCM with branched-chain amino acids (BCAA) and the last group was control.

The total body weight, liver body weight ratio, spleen body weight ratio, mortality rates, as well as the plasma levels of carbamide, glucose and cholesterol were compared.

BCAA did not influence the pathohistological picture of liver failure and positively affected the protein, carbamide, glucose and cholesterol levels.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ СОВРЕМЕННЫХ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ

¹Власенко Т.Н., ²Назаров В.Б., ³Гребенюк А.Н., ³Зацепин В.В., ³Аксенова Н.В.

¹Медицинская служба Железнодорожных войск, Москва, Россия;

²Научно-производственный центр «Фармзащита» ФМБА России, Химки,
Россия;

³Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Актуальной проблемой современной экспериментальной и клинической фармакологии является разработка новых противолучевых средств, позволяющих не только защитить организм от радиационной гибели, но и сохранить жизнеспособность и функциональную активность кроветворной и иммунной систем. Перспективным в этом плане является применение радиопротекторов, в частности Б-190, позволяющих предотвратить развитие комплекса разрушительных реакций, вызванных действием ионизирующего излучения. Другим направлением разработки новых средств противорадиационной защиты является использование стимуляторов гемопоэза, в частности интерлейкина-1 β , при введении которых в ранние сроки после облучения ускоряется восстановление нарушенного вследствие радиационного воздействия функционирования кроветворной системы.

Задача исследования: сравнительная оценка противолучевой эффективности современного радиопротектора Б-190 и перспективного средства ранней терапии радиационных поражений интерлейкина-1 β .

Экспериментальные исследования выполнены на 124 белых беспородных мышцах-самцах и 185 мышцах-самцах гибридах первого поколения СВА х С57В1. Животные подвергались гамма-облучению на установке ИГУР-1 в дозах 6,3; 6,8 и 7,3 Гр. Препарат Б-190, производства НПЦ «Фармзащита ФМБА России, вводили перорально в дозе 200 мг/кг (4 мг/особь), разведенным в 0,5 мл 0,5 % раствора крахмала за 15 мин. до радиационного воздействия внутрижелудочно зондом. Рекомбинантный интерлейкин-1 β , производства НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, вводили внутривенно в дозе 50 мкг/кг (1 мкг/особь), разведенным в 0,2 мл физиологического раствора. Оценку радиозащитной эффективности препарата Б-190 и интерлейкина-1 β проводили по критериям выживаемости и средней продолжительности жизни погибших животных, а также по влиянию этих препаратов на состояние костномозгового кроветворения и динамику количества клеток периферической крови после облучения.

В результате проведенных исследований установлено, что препарат Б-190 при его введении за 15 минут до облучения позволяет увеличить выживаемость

облученных в дозе 6,3 Гр мышей на 10 % , в дозе 6,8 Гр – на 15 %, в дозе 7,3 Гр – на 33 %. Интерлейкин-1 β при его введении через 15 минут после облучения позволяет повысить число выживших животных при облучении в дозе 6,3 Гр на 10 % и в дозе 7,3 Гр – на 20 %.

Оба препарата оказывают позитивное влияние на состояние системы кроветворения. Профилактическое применение препарата Б-190 за 15 минут до облучения экспериментальных животных позволяло сохранить в 3,1-3,5 раза больше эндогенных КОЕ-С9, чем у мышей контрольных групп (облучение). Использование рекомбинантного интерлейкина-1 β в ранние сроки после радиационного воздействия было менее эффективно, чем применение Б-190, но, тем не менее, также позволяло сохранить в 2,5-3,1 раза больше колоний, чем у животных контрольных групп.

Следует также отметить, что профилактическое применение препарата Б-190 позволяло на 3-4 суток увеличить среднюю продолжительность жизни погибших от радиационного воздействия мышей, а рекомбинантный интерлейкин-1 β не оказывал существенного эффекта на этот показатель.

Введение исследуемых препаратов также положительно влияло на гемопоэз облученных мышей, оцененный по динамике числа лейкоцитов периферической крови. Профилактическое введение препарата Б-190 и раннее терапевтическое применение интерлейкина-1 β достоверно предотвращало снижение общего числа нейтрофилов периферической крови у облученных мышей на протяжении всего срока исследования и к 20 суткам наблюдения практически не отличалось от исходных показателей.

Таким образом, и препарат Б-190, и интерлейкин-1 β могут рассматриваться в качестве перспективных противолучевых средств. Весьма перспективным представляется дальнейшее изучение этих препаратов при их совместном введении.

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY OF MODERN ANTIRADIATION AGENTS

¹Vlasenko T.N., ²Nazarov V.B., ³Grebenyuk A.N., ³Zatcepin V.V., ³Aksenova N.V.

¹Medical Service of Railway Troops, Moscow, Russia;

²Federal Medico-Biological Agency SPG "Pharmprotection", Khimki, Russia;

³Medical Military Academy, St.-Petersburg, Russia

The application of the radioprotector B -190 and the stimulator of hemopoiesis interleukin-1 β is promising for protection of the organism from radiation loss and retaining of the viability and functional activity of the hemopoietic and immune systems. The administration of these agents accelerates restoration of the hemopoietic system functions disrupted by radiation exposure, and also it leads to an increase of the viability of those irradiated in animals.

ИЗМЕНЕНИЕ ОСНАЩЕННОСТИ МИТОХОНДРИЙ МИОКАРДА ЭНДОГЕННЫМИ СУБСТРАТАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИБРАЦИИ И СХЕМ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ *IN VIVO*

Воробьева В.В.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

У населения России имеются очень высокие суммарные риски сердечно-сосудистых осложнений. Профессиональные факторы, в частности вибрация, усугубляют эти риски. У лиц, длительно работающих в виброопасных условиях, частота сердечно-сосудистой патологии в 1,5 – 2,0 раза выше, чем в среднем по популяции. Актуальность экспериментальных и клинических исследований функционирования миокарда на фоне вибрационного воздействия обусловлены не только высокой степенью уязвимости сердца и распространенностью (медицинской значимостью) вибрационной болезни, но и низкой эффективностью лечения данного вида патологии.

В экспериментальных работах последних лет [1] удалось доказать, что длительное воздействие общей вибрации сопровождается формированием изменений в митохондриях (МХ) миокарда по типу низкоэнергетического сдвига. Он проявляется активизацией процессов окисления янтарной кислоты и торможением активности НАД-зависимого звена дыхательной цепи. Эти изменения носят фазный характер, зависят от частоты и длительности вибрации и сопровождаются морфологическими изменениями: нарастанием дистрофии кардиомиоцитов (КМЦ), уменьшением капиллярной сети, спазмом артериол, увеличением межклеточного и межпучкового отека, постепенным расширением очагов кровоизлияний и некроза.

Подобные выводы позволили предположить, что целенаправленная фармакологическая регуляция энергетического обмена будет способствовать эффективной коррекции вибрационно-обусловленной гипоксии и энергодефицита. Поэтому целью данного исследования явилось изучение влияния препаратов, общепринятых в лечении вибрационной болезни (никотиновая кислота и нифедипин) в сравнении с препаратом, содержащим митохондриальный субстрат (янтарь-антистокс) на активность системы энергопродукции КМЦ в условиях воздействия вибрации.

Эксперименты проведены на 105 кроликах-самцах породы Шиншилла массой 2,5-3кг, в возрасте 3-4месяца. Действие общей вертикальной вибрации с амплитудой 0,5мм осуществляли с помощью промышленной установки. Ежедневно (без выходных) в течение 7, 21 и 56 дней проводили сеансы вибрации с частотой 8 и 44Гц по 60 минут в утренние часы с 9.00 до 11.00 в осенне-зимний период. Фармакологические препараты вводили в виде 2 мл суспензии с помощью эластичного зонда по общепринятой методике за 60 минут до вибрации. Дозы препаратов вычисляли с помощью коэффициента перерасчета равноэффективных доз для разных видов млекопитающих и человека с учетом зависимости между массой тела и относительной площадью его поверхности. Интактные и контрольные животные, которые подвергались вибрации без фармазащиты, получали физиологический раствор.

Динамику истощения эндогенных энергетических субстратов в ткани в зависимости от типа воздействия на целостный организм оценивали в «тесте временной деградации митохондрий» («тест ВДМХ») на протяжении 60 минут хранения гомогената в аэробных условиях при температуре 18-20⁰С. Каждые 20 ми-

нут отбирали пробы для измерения скорости эндогенного дыхания (V_o) «нативных» МХ сердца кроликов полярографическим методом [2] в ячейке 1мл, при 37°C в среде инкубации и относили значения к исходной скорости, измеренной тотчас же после получения свежего гомогената. Скорость дыхания МХ выражали в нг-атом О мин⁻¹мг⁻¹белка. Повреждающее действие вибрации и защитные свойства лекарственных препаратов подтверждали морфогистологическим анализом. Обработка гистологического материала (ткань мышцы миокарда левого желудочка в области верхушки) осуществлялась в ходе стандартной гистологической спиртопарафиновой проводки. Окрашивание препаратов производили гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета прикладных программ «Exel-2002» (MS Office 2002), «STATISTICA» 6,0. Значимость межгрупповых различий оценивали с помощью параметрического (t-критерия Стьюдента) и непараметрического (Манна-Уилки-U-теста) в зависимости от нормальности распределения параметра, которую определяли по тесту Колмогорова - Смирнова в модуле «Basic Statistica/Tables. Frequency tables» ППП STATISTICA 6,0.

Изменение скорости эндогенного дыхания после наиболее неблагоприятного режима вибрации (56 сеансов 44 Гц) выразилось в падении V_o через 40 минут инкубации в 1,4 раза ($p \leq 0,05$), и дальнейшем ее снижении к 60 минуте инкубации, что отражало истощение энергетических ресурсов миокарда.

На фоне фармакологической защиты никотиновой кислотой (4,2мг/кг) показатели скорости эндогенного дыхания оказались подобными группе вибрированных животных. Морфологические изменения в миокарде характеризовались дистрофией кардиомиоцитов, межпучковым и межклеточным отеком, очагами кровоизлияний и некроза.

Нифедипин (7,5 мг/кг) замедлял процесс «старения» митохондрий в гомогенате и истощение эндогенных энергетических субстратов в ткани. К завершению инкубации рост V_o относительно показателя вибрированных животных увеличивался в 3 раза ($p \leq 0,01$). Очевидно, что блокатор кальциевых каналов существенно повышал фонды и доступность эндогенных энергетических субстратов к МХ миокарда до уровня, достаточного для энергообеспечения резистентности миокарда к воздействию вибрации. Однако морфологически миокард при защите нифедипином характеризовался признаками зонального набухания КМЦ с фокальной потерей в них ядер и умеренной интерстициальной реакцией, отсутствием компенсаторной гипертрофии и высокой степенью полнокровия.

Динамика V_o на фоне введения янтаря-антитокса (8,4 мг/кг) свидетельствовала о сохранении эндогенных энергетических ресурсов миокарда доступными для митохондрий и достаточными для обеспечения фазы резистентности системы энергопродукции миокарда в условиях вибрационно-опосредованного стресса. На 20 минуте инкубации гомогената различия с динамикой V_o интактного контроля отсутствовали, на 40 минуте – отмечалось снижение показателя относительно интактного контроля в 1,4 раза ($p \leq 0,05$), однако на 60 минуте различия нивелировались и V_o возвращалась к уровню интактного контроля, превосходя показатель вибрированных животных в 2 раза ($p \leq 0,01$). Морфологическая картина характеризовалась сокращением диапедезных кровоизлияний, восстановлением структуры артериол, активизацией стромальной реакции, идущей вровень с

адаптационной перестройкой КМЦ в виде гипертрофии.

Таким образом, оптимальным действием на переживающие митохондрии в условиях «теста ВД» после воздействия вибрации обладал янтарь-антитокс и нифедипин, поддерживающие метаболизм ткани миокарда на уровне, близком к уровню интактных животных, замедляющие процесс истощения эндогенных энергетических ресурсов и способствующие сохранности морфологической структуры миокарда. Никотиновая кислота не проявляла кардиовибропротективного эффекта.

Литература:

1. Воробьева В.В., Шабанов П.Д. Функциональная активность системы энергопродукции миокарда кролика при воздействии общей вибрации. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2009. Т.95, №1. С. 19-27.

2. Кондрашова М.Н. Аппаратура и порядок работы при полярографическом измерении дыхания митохондрий: Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М.: Наука, 1973.

CHANGE IN SUPPLY OF MYOCARDIAL MITOCHONDRIA WITH ENDOGENOUS SUBSTRATES DEPENDING ON VIBRATION AND PHARMACOLOGICAL DEFENSE IN VIVO

Vorobiova V.V.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

The dynamics of exhaustion of endogenous energy substrates in myocardium tissue as a function of vibration regimens and pharmacological defense was studied in the test of temporary degradation of mitochondria. The velocity of endogenous breath of native mitochondria of rabbit hearts was determined using the Clark's membrane electrode during incubation in a 1ml cell, at 37°C for 60 min. Succinate (yantar-antitox) and nifedipine persisted myocardial metabolism after vibration on the level of control (without vibration) rabbits, inhibiting the exhaustion of endogenous energy sources and supporting morphological structure of myocardium. Nicotinic acid did show any cardiovibroprotective action.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ АКТГ (4-10) КАК НЕЙРОМОДУЛЯТОРЫ И ОСНОВА ДЛЯ БУДУЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

¹Вьюнова Т.В., ¹Шевченко К.В., ¹Шевченко А.А., ¹Андреева Л.А., ²Безуглов В.В.

¹*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия;*

²*Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

Создание высокоэффективных лекарственных средств, характеризующихся не только широким спектром действия и минимальным числом побочных эффектов, но и простотой синтеза биологически активных соединений, составляющих препарат, является на сегодня одной из актуальных задач современной медицины

и биотехнологии. Зачастую, причину возникновения и развития того или иного заболевания следует искать в нарушении баланса во взаимодействии внутренних систем организма. В качестве универсальных эндогенных регуляторов практически всех физиологических функций организма выступают, как правило, нейропептиды. Создание синтетических аналогов или искусственных модификаций эндогенных пептидов является одним из способов разработки основы для будущих лекарственных препаратов. Так, например, фрагмент АКТГ(4-7) с присоединенной Pro-Gly-Pro C-концевой последовательностью (названный семакс), является синтетическим регулятором функций центральной нервной системы, обладает уникальным набором физиологических эффектов (стимулирование когнитивных функций мозга, нейропротекция, офтальмологические и противовоспалительные эффекты, снижение болевой чувствительности и противоишемическое влияние), которые способны проявляться даже по истечении 12 и более часов. Несмотря на успешное применение препарата, механизм его действия до конца не ясен. В работе были исследованы такие аспекты молекулярного механизма действия данного глипролина, как биодegradация в присутствии плазматических мембран различных отделов мозга крысы, а также специфическое связывание меченного тритием по С- концевому пролину гептапептида (MENFPG[³H]P) и его метаболитов. Установлено, что под действием мембранных протеолитических ферментов из интактной молекулы гептапептида образуется набор коротких (преимущественно С- концевых) фрагментов, большая часть из которых обладает собственной биологической активностью. Определены характеристики мест специфического связывания семакса, пентапептида HFPGP и трипептида PGP на плазматических мембранах различных отделов мозга крысы. Предложена гипотеза возможного молекулярного механизма действия семакса, позволяющая рассматривать этот нейропептид в качестве предшественника своеобразного комплекса биологически активных молекул.

SYNTHETIC ANALOGS OF ACTH(4-10) AS NEUROMODULATORS AND BASIS FOR EFFECTIVE WIDE SPECTRUM ACTIVITY DRUGS

¹V¹unova T.V., ¹Shevchenko K.V., ¹Shevchenko A.A., ¹Andreeva L.A., ²Bezuglov V.V.

¹*Institute of Molecular Genetics RAS, Moscow, Russia;*

²*Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia*

Neuropeptides known as universal regulators of most physiological functions in living organisms. Artificial analogs or modifications of these endogenous molecules could become a good base for new effective drugs in future. Semax is a heptapeptide, synthetic analogue of an ACTH(4-10) fragment of corticotropin, of the following structure: Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro. It is characterized by wide spectrum of prolonged action (24 to 48 hours), and the absence of hormonal activity and side effects. Semax included into the therapy complex of optic nerve diseases, it can be used as a nootropic, for treatment of intellectual and mnestic disorders efficiently protects the nervous tissue from damage after-effects. The mechanism of Semax activity is still unclear.

Such important moments of molecular mechanism like biodegradation and specific binding with rat brain cells plasmatic membranes of semax and it's metabolites were investigated. It was shown that Semax exposing to P2 membranes of different brain structure

cells undergoes fast proteolysis by membrane enzymes. Semax is actively cleaves to the biologically active HFPGP-pentapeptide, PGP-tripeptide and other non active fragments (C-terminal mainly). It was shown that binding of [³H]Semax, [³H]HFPGP and [³H]PGP is time-dependent, saturable and specific. All data presented let us to make suggestion that biological activity of Semax may be the result of molecular mechanism, including peptide biodegradation process and specific binding of Semax and its short derivative fragments.

ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОЛОНОМ В ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНОЙ ЭНДОСКОПИИ

Гинько Т.А.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь;
Минский консультационно-диагностический центр, Минск, Беларусь*

Целью исследования являлось совершенствование методов диагностики и лечения пациентов с облигатной предраковой патологией верхних отделов пищеварительного тракта, фотодинамическая терапия пищевода Барретта и дисплазии слизистой оболочки желудка.

Дисплазия слизистой оболочки желудка и пищевод Барретта входят в группу предраковых состояний и заболеваний (с риском развития рака, составляющим 70-90%) [1] Эпителиальная дисплазия – качественно изменённая пролиферация, за которой следует развитие рака. Регрессия кишечной метаплазии преимущественно наблюдается в антральном отделе и, в меньшей степени – в теле желудка. [2]. Возврат к физиологической регенерации и нормализация процессов апоптоза происходит в течение 6 месяцев. Обратное развитие кишечной метаплазии в пищеводе по данным разных авторов продолжается от 8 месяцев до 3 лет [1]. По другим данным, при проведении успешной эрадикации и терапии ИПП в более чем 40 % происходят рецидивы в течение ближайших 2х лет. Регрессия гистологических проявлений дисплазии: клеточной атипии, дисдифференциации, дезорганизации и строения слизистой оболочки происходит в течение 3-6 месяцев. По литературным данным на фоне медикаментозного лечения ингибиторами протонной помпы у 20% пациентов выявлена отрицательная динамика – нарастание степени дисплазии, развитие кишечной метаплазии [2]. Отсутствие положительной морфологической динамики требует применения методов эндоскопической фотодинамической лазеротерапии. Новые показания для применения ФДТ в лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) включают патологию пищевода (в основном пищевод Барретта) и заболевания желудка, ДПК, билиарного и панкреатического трактов. Одной из наиболее интересных сфер применения ФДТ является пищевод Барретта (ПБ). Начальные исследования показали способность ФДТ устранять дисплазию высокой степени у почти 90 % и всех сегментов ПБ у 1/3 пролеченных пациентов.

При регрессии (инволюции) признака дисплазии, а также сокращении площади метаплазированного эпителия, лечение может быть признано эффективным.

В отделении эндоскопии МКДЦ выполнено 1640 ФГДС (GIF «OLYMPUS» XQ-30, Q-40, V-70). Витальные красители применялись при первичной и контрольной гастроинтестинальной эндоскопии. Оценка результатов лечения предраковых со-

стояний и изменений соотношения морфологических факторов риска канцерогенеза производилась только методом хромоэндоскопии с биопсией с учётом изменения площади патологических очагов. Морфологическое исследование гистобиоптата – с окраской по Романовскому - Гимзе. Эндоскопическая ФДТ с Фотолоном была применена с использованием лазера Родник 1 (670 нм) у пациентов с поверхностными неоплазмами резистентных к стандартной медикаментозной терапии

Установлено, что среди пациентов с дисплазией слизистой пищевода и желудка до 52% составляют лица с метапластическим типом атрофии.

Морфологические предраковые изменения (дисплазия, кишечная метаплазия) сохранились у 50 % пациентов на фоне медикаментозной терапии при сроках наблюдения более трёх лет

Применение ФДТ с Фотолоном у пациентов, резистентных к стандартной медикаментозной терапии, позволило добиться регрессии предраковых изменений в 95 % случаев при сроках наблюдения более трёх лет.

Заключение: ФДТ с Фотолоном может быть рекомендована к применению у пациентов с пищеводом Барретта и дисплазией слизистой ВОПТ резистентных к стандартной медикаментозной терапии при отсутствии положительной морфологической динамики через 6 месяцев от начала терапии.

Литература:

1. Пирогов С.С., Эндоскопические методики в уточняющей диагностике и лечении больных с пищеводом Барретта. Автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, 2008, 23с.

2. Alteration of histological gastritis after cure of *Helicobacter pylori* Infection / M.Hojo, H. Miwa, T.Ohkusqa et al. // *Aliment. Pharmacol. Ther.*- 2002. – Vol.16. – P. 1923-1932.

APPLICATION OF PHOTODYNAMIC THERAPY WITH PHOTOLON IN GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY

Gin'ko T.A.

*Belarus State Medical University, Minsk, Belarus
Minsk Consulting and Diagnostic Center, Minsk, Belarus*

Dysplasia of mucous coat of stomach and Barrett's syndrome are pre-cancerous conditions with risk of cancer as 70-90 per cent. Pre-cancerous morphological changes (dysplasia, intestinal metaplasia) have remained in 50 per cent of drug therapy patients during 3 years of observation. In case of absence of positive morphological dynamics after 6 months of therapy in patients with Barrett's syndrome and dysplasia of mucous coat of upper digestive tract, the photodynamic therapy with photolon may be recommended.

АДРЕНАЛИН И СТАРТОВАЯ АКТИВАЦИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ СТРЕССЕ

Гольшко П.В., Туманов А.В., Виноградов В.В.

*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь*

Известно, что в начальную фазу стресса тироксиногенез в щитовидной железе активируется, а затем прогрессивно снижается [1]. Если развитие стрессорного гипотиреоза большинство авторов связывает с тормозящим действием гормонов коры надпочечников на секрецию тиреотропина гипофизом [2], то в отношении начальной активации щитовидной железы при стрессе такой ясности пока нет. Поскольку реакция напряжения начинается с выделения катехоламинов [3], можно предположить, что гормоны мозгового вещества надпочечников являются промоторами стимуляции тироксиногенеза. В этой связи было интересно оценить влияние биогенных аминов на секреторную функцию щитовидной железы в прямом эксперименте *in vivo* с введением адреналина крысам.

Эксперименты проводили на крысах-самках линии Вистар массой 150-200 г. Адреналин (0,18% эпинефрин-гидротартрат: фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) вводили внутривенно в дозе 0,2 мл (0,36 мг) на 100 г массы. Животных декапитировали через 5, 10, 15, 30, 45, и 60 мин после однократного введения препарата. Поскольку у интактных крыс циркадные ритмы гормонообразования в гипофиз-адреналовой и гипофиз-тиреоидной системах зеркально соотносятся друг с другом, коррелируя с фотопериодом и двигательной активностью, образцы крови и тканей у экспериментальных животных брали в 11⁰⁰, когда разнонаправленность циркадных сдвигов в обеих системах была минимальной.

В плазме крови определяли концентрацию тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) с помощью иммуноферментных наборов (K211 и K212 фирмы «Хема-Медика», Москва). В плазме и адреналовых железах определяли содержание кортикостерона методом высокоэффективной хроматографии на хроматографе «Милихром», где в качестве подвижной фазы использовали соотношение гексан:метанол:хлороформ, равное 7:1:1. Активность тиреопероксидазы определяли в гомогенате ткани щитовидной железы спектрофотометрическим методом по окислению йодида. Полученные данные обработаны методами вариационной статистики.

Установлено, что активность ключевого фермента биосинтеза йодтиронинов в щитовидной железе крыс – тиреопероксидазы в течение 5-10-15-30-45-60 мин после однократного введения адреналина поддерживается на стабильно высоком уровне, что обеспечивает устойчивое повышение во все сроки опыта секреции в кровь тироксина (Т4) и более сильное - трийодтиронина (Т3).

Четкая временная синхронизация активации тироксиногенеза в щитовидной железе и стероидогенеза в надпочечниках, а также увеличение продукции Т3 по сравнению с Т4 после введения адреналина свидетельствует об отсутствии ингибирующего действия новообразованного эндогенного кортикостерона на секрецию ТТГ гипофизом и активность 5-дейодиназы тироцитов в принятых условиях.

Анализ собственных и литературных данных показывает, что именно катехоламины, а не ТТГ могут быть прямыми модуляторами стартовой активации щитовидной железы при стрессе.

Литература:

1. Виноградов В. В., Гольшко П. В. // Весті НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2008. № 4. С. 99-111.
2. Робу А. И. Взаимоотношения эндокринных комплексов при стрессе. Кишинев. 1982.
3. Henry J. P. // Catecholamines and stress: recent advances. N. Y. Elsevier North Holland. 1980. P. 555-571.

ADRENALIN AND INITIAL ACTIVATION OF THE THYROID IN STRESS

Golyshko P.V., Tumanov A.V., Vinogradov V.V.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch, Grodno, Belarus

Within 5-20-15-30-45-60 min after the single adrenalin injection, the activity of the key enzyme of iodothyronine biosynthesis in the rat thyroid, thyroperoxidase, was maintained at a high level, which provides a stable increase in thyroxin (T4) release into the blood and a more pronounced efflux of triiodothyronine (T3) throughout the experiment.

The clear-cut time synchronization of thyroxynogenesis activation in the thyroid and steroidogenesis in the adrenal glands as well as the increased T3 production compared to T4 after the adrenalin administration indicate the absence of inhibitory action of the newly formed endogenous corticosterone on the TTH secretion by the hypophysis and thyrocyte 5-deiodinase under the accepted conditions.

The analysis of our own and literature data shows that catecholamines rather than TTH can be direct modulators of starting thyroid activation under stress.

**ФЕРМЕНТЫ ГЛУТАМИНОВОГО ЦИКЛА СТРУКТУР ЦНС ПРИ
АЛЮМИНИЕВОМ НЕЙРОТОКСИКОЗЕ И ВВЕДЕНИИ ПАНТЕТИНА**

Гроховская Т.Ч.

*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь*

Аминокислотный обмен в ЦНС сопряжен с процессами образования нейромедиаторов, освобождения и связывания токсичного для клеток мозга аммиака, функционированием ферментов антиоксидантной защиты. Центральное место в синаптической передаче и детоксикационных процессах в нейроструктурах принадлежит глутаминовой кислоте, которая служит субстратом дыхания, ингибирует анаэробный и усиливает аэробный гликолиз, участвует в синтезе глутатиона, взаимодействует с глутаматэргическими рецепторами. Метаболический буфер «глутамат↔глутамин» в мозге поддерживает оптимальную концентрацию глутаминовой кислоты. Причинами нарушения нормального метаболизма глутамата в ЦНС являются нейротоксические и нейродегенеративные процессы. В настоящее время неврологами обстоятельно изучается модель нейродегенеративных поражений структур мозга животных путем

применения хлорида алюминия как аналог патологических процессов, характерных для болезней Альцгеймера и Паркинсона [1]. С конца 70-х годов в экспериментальной и клинической практике для стимулирования процессов детоксикации и антиоксидантной защиты в организме используются производные пантотеновой кислоты (пантотенат кальция, пантетин, пантенол, пантогам).

Цель настоящего исследования – изучить изменения активности ферментов глутаминового цикла в структурах головного мозга крыс при моделировании нейродегенеративных поражений посредством введения хлорида алюминия (алюминиевый нейротоксикоз) и коррекции их пантетинном – лекарственным соединением с широким спектром фармакотерапевтической активности.

В эксперименте использованы белые крысы-самки линии Wistar массой 200–220 г, получавшие стандартный рацион вивария. Нейротоксические поражения мозга инициировали двукратным внутрибрюшинным введением хлорида алюминия ($AlCl_3$; 190 мг/кг на период 14 сут). Аналогичная интоксикация $AlCl_3$ применялась на фоне трехкратного внутривенного назначения D-пантетина (270 мг/кг за 48, 24 и 6 ч до забоя животных). Контролем служили здоровые интактные крысы. В структурах головного мозга (ГМ) крыс (большие полушария, мозжечок, ствол) определялась активность ферментов обмена глутамин: глутаминсинтетазы (ГС) поэтапно в синтетазной и трансферазной реакциях, фосфат-засисимой (ФЗГ) и фосфат-независимой (ФНГ) глутаминаз, глутаматдегидрогеназы (ГлДг) в прямой и обратной реакциях.

Известно, что развитие болезни Альцгеймера на ранней стадии сопровождается активацией глутаминсинтетазы в спинном мозге, что является диагностическим маркером заболевания [2,3]. В нашем случае моделирование нейродегенеративной патологии путем введения крысам $AlCl_3$ приводило к характерной активации ГС (более чем в 1,5 раза) в стволе головного мозга. Одновременно алюминиевый нейротоксикоз приводил к снижению активности митохондриальной ФЗГ в стволе и цитозольной ФНГ в мозжечке, а также активации ГлДг в глутаматметаболизирующей реакции в больших полушариях мозга. На фоне этого в мозжечке отмечался рост активности ГлДг в реакции с α -кетоглутаратом. Отмеченные сдвиги в активности исследуемых ферментов глутаминового цикла в структурах ГМ крыс косвенно указывают на активацию нейродегенеративных процессов при назначении животным $AlCl_3$ (в случае с ГС) и на нейротоксические эффекты соединения, опосредованные накоплением глутамата и, как следствие, аммиака (в случае с глутаминазами, активность которых в мозговой ткани ингибируется высокой концентрацией глутамата).

Введение пантетина на фоне моделирования алюминиевого нейротоксикоза в исследуемых нейроструктурах приводило к активированию ГС, ФЗГ (в больших полушариях) и ФНГ (в стволе и мозжечке). Одновременно активность ГлДг в реакции с глутаматом снижалась более чем в 2 раза и активировалась в 2–3 раза в стволе и мозжечке (но не в больших полушариях). В противоположность этому, в больших полушариях и мозжечке α -кетоглутарат-метаболизирующая активность ГлДг снижалась. Выявленные эффекты, вероятно, свидетельствуют, что на фоне моделирования нейродегенеративной патологии и введения пантетина происходит утилизация глутамата, медленно проникающего через клеточную мембрану, превращение его в глутамин, который легко может переходить в кровоток либо в спинномозговую жидкость, удаляя тем самым из мозга весьма токсичный аммиак, и, как следствие, восстановле-

ние метаболического равновесия в системе «глутамат \leftrightarrow глутамин».

В целом, реакция ферментов метаболизма цикла глутамина при введении пантетина указывает на преимущественно внемитохондриальный путь реализации эффективности данного предшественника кофермента А, что подтверждается результатами исследования биотрансформации пантетина в субклеточных структурах.

Таким образом, полученные нами данные по изучению ключевых ферментов глутаминового цикла (глутаминсинтетаза, глутаминазы) в структурах головного мозга животных при алюминиевом нейротоксикозе и введении пантетина указывают на целесообразность исследования последнего в плане коррекции нейродегенеративных повреждений глутаматного пула в ЦНС.

Литература:

1. Агажданов М.И., Ваградян А.Г. и др. Влияние обогащенного пролином синтетического пептида на содержание металлопротеинов и перекисное окисление липидов у крыс при алюминиевом нейротоксикозе (модель болезни Альцгеймера) // Нейрохимия. - 2000. - Т. 17, № 4. - С. 294-297.

2. M.C. McKenna The glutamate-glutamine cycle is not stoichiometric: fates of glutamate in brain. // J of Neuroscience Res. - 2007. - Vol. 85. - P. 3347-3358.

3. Gunnersen D., Haley B. Detection of glutamine synthetase in cerebrospinal fluid of Alzheimer diseases patients. A potential diagnostic biochemical marker// Pra Nat Acad Sci USA. - 1992. -Vol. 89, № 24. - P. 11949-11953.

GLUTAMINE CYCLE ENZYMES IN CNS UNDER ALUMINIUM NEUROTOXICOSIS AND PANTETHINE ADMINISTRATION

Grohovskaya T.Ch.

*Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch,
Grodno, Belarus*

In our experiment, the model of aluminium toxicosis is accompanied by accumulation of neurotoxic glutamate in the brain, which causes activation the enzyme of glutamine synthesis in the brain stem and glutamate dehydrogenase (in reaction with α -ketoglutarate) in the rat cerebellum and decreases glutaminase activities in these structures. Pantethine combined with aluminium chloride administration increases the activities of the glutamine metabolic enzymes in the brain structures, which can indicate transformation of glutamic acid into glutamine, which can slowly penetrate through the cell membrane and easily pass into the blood circulation or into the spinal fluid, removing rather toxic ammonia from the brain and, consequently, restore the metabolic balance in the system of «glutamate \leftrightarrow glutamine».

ВЛИЯНИЕ D-ПАНТЕТИНА НА УРОВЕНЬ КОФЕРМЕНТА А И АЦИЛ-КоА В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ МИОКАРДА КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРИСТЫМ АЛЮМИНИЕМ

Дорофей Д.С., Гуринович В.А.

*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь*

В последние годы возрос интерес к изучению ключевых процессов энергетического обмена в клетках сердца – кардиомиоцитах (КМЦ), механизмов их регуляции, а также тех изменений, которые этот обмен претерпевает при различных патологических состояниях миокарда. Сердечная мышца использует энергию в виде молекул аденозинтрифосфата (АТФ), которые синтезируются непосредственно в КМЦ в результате окисления энергетических субстратов в митохондриях (МХ). Многочисленные биохимические реакции, в том числе и реакции окисления субстратов энергетического обмена, протекающие в миокарде, требуют в числе других кофакторов коферментную форму пантотеновой кислоты (ПАК) – кофермент ацетилирования (КоА). Изучение природных и высокоэффективных регуляторов энергетического обмена в КМЦ является перспективным направлением в кардиофармакологии.

В данном эксперименте изучен модулирующий эффект высокоэффективного гипополипидемического и антиоксидантного препарата, обладающего также противоишемической активностью, – D-пантетина (D-ПТ) на структуру кислоторастворимой фракции КоА (включающей КоА-SH, ацетил-КоА, малонил-КоА, бутирил-КоА и другие короткоцепочечные ацил-КоА) в субклеточных фракциях миокарда крыс в условиях окислительного стресса, обусловленного алюминиевой интоксикацией (АИ).

Эксперимент выполнен на 24 белых крысах-самках линии Wistar весом 200–220 г, получавших сбалансированный рацион вивария и разделенных на три группы по 8 особей: I – контрольная, II – двукратное в/брюшинное введение 10% раствора хлорида алюминия ($AlCl_3$) в дозе 190 мг/кг массы тела на 1-е и 3-и сут от начала эксперимента в течение 14 дней, III – на фоне аналогичной АИ проводилось трехкратное в/желудочное введение D-пантетина («Дайичи Сейяку», Япония) в дозе 270 мг/кг массы тела за 48, 24 и 6 ч до декапитации.

Субклеточные фракции миокарда (постмитохондриальную и митохондриальную) выделяли методом дифференциального центрифугирования на центрифуге «K-26 D» (Германия) при 4°C на буфере (pH=7,4), содержащем 0,32 М сахарозу, 0,25 мМ тарترات натрия и 0,5 мМ ЭДТА. Осадок митохондрий ресуспензировали средой выделения с последующим добавлением 6% $HClO_4$ в соотношении 1:1, содержащей 10 мМ дитиотрейтола, и центрифугировали 15 мин при 14000g и 4°C на центрифуге «Heraeus Biofuge Fresco» (Германия). Определение количества белка проводилось по методу Лоури.

Анализ свободного КоА (КоА-SH) и короткоцепочечных ацил-КоА (ацетил-КоА, малонил-КоА и бутирил-КоА) в субклеточных фракциях миокарда осуществляли методом ВЭЖХ на приборе «Agilent 1100/1200» («Agilent Technologies», США). Подготовленные пробы в процессе хроматографирования сохраняли в термостате прибора при 8°C. Для элюирования образцов использовали 100 мМ натрий-фосфатный

буфер (рН=4,5) и градиент (5–30% метанола) на колонке Zorbax SB-C₁₈, 3x150 мм и размером частиц 3,5 мкм («Agilent Technologies», США), температура колонки 30°C, скорость потока 0,4 мл/мин. Регистрацию пиков осуществляли на диодно-матричном детекторе при 260 нм.

Сравнение достоверности различий между группами проводилось по t-критерию Стьюдента с помощью программного пакета «Prizm 4 for Windows» (ver. 4.00, «Graph-Pad Software, Inc»). Статистически значимыми считали различия при значении $p < 0,05$.

Введение $AlCl_3$ по сравнению с контрольной группой экспериментальных животных не выявило статистически достоверных различий по уровню КоА-SH, а также по уровню ацил-КоА производных – ацетил-КоА, малонил-КоА и бутирил-КоА в постмитохондриальной субклеточной фракции миокарда. Однако назначение $AlCl_3$ привело к модуляции структуры кислоторастворимой фракции КоА в МХ миокарда, а именно – снижению уровня КоА-SH и малонил-КоА, и увеличению уровня бутирил-КоА. Курсовое назначение на фоне алюминиевой интоксикации D-ПТ, как предшественника биосинтеза КоА в КМЦ, выявило существенный прирост уровня КоА-SH в субклеточных фракциях миокарда экспериментальных животных. Изменение при курсовом назначении D-ПТ на фоне АИ в сторону увеличения более чем в 1,5 раза соотношения КоА-SH/ацетил-КоА в МХ миокарда позволяет заключить, что D-ПТ является эффективным модулятором структуры кислоторастворимой фракции КоА и, в этой связи, может влиять на интенсивность энергетического обмена в миокарде.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1) моделирование окислительного стресса, обусловленного алюминиевой интоксикацией, приводит к снижению уровня КоА-SH, малонил-КоА и увеличению уровня бутирил-КоА в митохондриальной фракции миокарда экспериментальных животных;

2) курсовое назначение на фоне алюминиевой интоксикацией D-пантетина как предшественника биосинтеза КоА приводит к увеличению уровня КоА-SH в субклеточных фракциях миокарда;

3) изменяя соотношение КоА-SH/ацетил-КоА в миокарде, D-пантетин является эффективным модулятором структуры кислоторастворимой фракции КоА в митохондриях миокарда.

EFFECT OF D-PANTETHINE ON COENZYME A AND ACYL-CoA LEVELS IN SUBCELLULAR RAT MYOCARDIUM FRACTIONS IN ALUMINIUM CHLORIDE INTOXICATION

Dorofey D.S., Gurinovich V.A.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch, Grodno, Belarus

Female Wistar rats were used to study the modulatory D-pantethine effect on the structure of the CoA acid-soluble fraction in subcellular rat myocardium fractions under oxidative stress caused by aluminium intoxication. The course administration of D-pantethine

at a dose of 270 mg/kg body weight results in an increased CoA-SH level in subcellular fractions of the rat myocardium.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ

Дремза И.К., Чешевик В.Т., Судникович Е.Ю., Забродская С.В.,
Лапшина Е.А., Заводник И.Б.

*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь*

Митохондрии играют ключевую роль в координации важнейших клеточных функций. Окислительные повреждения митохондрий и последующая дисфункция необратимо приводят к гибели клетки. Цель настоящей работы – изучить механизмы окислительного повреждения митохондрий печени крыс *in vivo* при острой интоксикации крыс тетрахлорметаном и *in vitro*, экспонируя митохондрии гипохлорной кислоте (НОС1). Гипохлорная кислота (50-300 мкМ), основной медиатор воспаления, эффективно ингибировала дыхательную активность митохондрий, нарушая сопряжение процессов дыхания и фосфорилирования, окисляла внутримитохондриальный глутатион и сульфгидрильные группы митохондриальных белков. Токсическое поражение печени крыс тетрахлорметаном в дозе 4 г/кг массы животного через 24 часа приводило к уменьшению скорости эндогенного дыхания, значительному уменьшению скорости сукцинат- и глутамат-зависимого дыхания, сопряженного с фосфорилированием в состоянии 3 (на 65 %, $p < 0.001$ и 50%, $p < 0.01$, соответственно). Коэффициенты акцепторного и дыхательного контролей приближались к 1, а коэффициент фосфорилирования резко уменьшался, свидетельствуя о значительном нарушении сопряжения окисления и фосфорилирования. Одновременно мы наблюдали окисление внутримитохондриального глутатиона, рост активности глутатионпероксидазы (на 50%, $p < 0.05$), выраженную инактивацию сукцинатдегидрогеназы (на 35 %, $p < 0.01$) и возрастание содержания окиси азота в плазме крови крыс (на 45 %, $p < 0.05$). Введение мелатонина интоксигированным животным (10 мг/кг х 3) не приводило к выраженному восстановлению функциональной активности митохондрий и сопровождалось диссипацией митохондриального потенциала. В то же время мелатонин увеличивал скорость дыхания в состоянии 3 (при использовании сукцината, но не глутамата в качестве субстрата) на 30 % ($p < 0.05$) и предотвращал повышение уровня окиси азота в плазме крови интоксигированных крыс. Таким образом, мелатонин можно рассматривать в качестве регулятора дыхательной активности митохондрий и биодоступности окиси азота.

Митохондрии играют ключевую роль в координации важнейших клеточных функций, являясь не только источником энергетических эквивалентов, но и мишенью, декодером и коммутатором внутриклеточных сигналов, генератором вторичных мессенджеров и проапоптотических факторов [1]. Многочисленные исследования продемонстрировали высокую чувствительность митохондрий к

окислительным воздействиям. Окислительные повреждения митохондрий и их последующая дисфункция необратимо приводят к гибели клетки по некротическому либо апоптотическому механизму [2]. Окислительные процессы в митохондриях повреждают компоненты электрон-транспортной цепи, митохондриальную ДНК, защищенную гистонами, нарушают интегральность митохондриальной мембраны, изменяя трансмембранный потенциал [2].

Предполагают, что дисфункция митохондрий представляет начальный этап проявлений гепатотоксичности, а сами митохондрии выступают первичной мишенью гепатотоксинов [3]. В многочисленных исследованиях ранее было продемонстрировано нарушение структуры и функции митохондрий при интоксикации тетрахлорметаном (CCl_4) [4].

Учитывая ключевую роль дисфункции митохондрий в патогенезе многих заболеваний [5], фармакологическую коррекцию дыхательной активности митохондрий следует рассматривать как перспективный подход в современных медицинских технологиях, а компоненты дыхательной цепи – как мишени специфического фармакологического воздействия. Существенный интерес представляет поиск митохондриальных антиоксидантов, способных препятствовать развитию окислительных повреждений митохондрий (так называемая митохондриальная медицина) [5].

Цель настоящей работы – изучить механизмы окислительных повреждений митохондрий *in vivo*, роль митохондриальных повреждений в патогенезе токсического поражения печени крыс тетрахлорметаном и оценить возможности фармакологической защиты митохондрий мелатонином.

Эксперименты проводили на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 200 – 250 г. CCl_4 вводили в 9 ч однократно внутривенно (в/ж) с помощью зонда в дозе 4 г/кг (50 % раствор на оливковом масле, 2,5 мл/кг). Мелатонин вводили в виде 0,3% раствора в 0,9% NaCl, содержащего 5% этанола, внутривенно (в/в) в дозе 10 мг/кг три раза: за 30 мин до введения четыреххлористого углерода, через 2 и 6 часов после введения четыреххлористого углерода. Животные были разделены на 4 группы: 1) животные, получавшие оливковое масло (5 мл/кг веса тела животных) и физиологический раствор, содержащий 5% этанола, (в том же объеме, что и раствор мелатонина, в/в), (контроль); 2) животные, получавшие мелатонин в/в и оливковое масло в/ж, (мелатонин); 3) животные, получавшие CCl_4 в/ж и физиологический раствор в/в, (CCl_4); 4) животные, получавшие мелатонин и четыреххлористый углерод, (мелатонин + CCl_4).

Гипохлорная кислота не изменяла скорости эндогенного дыхания (V_1), незначительно увеличивала скорость сукцинат-зависимого дыхания (V_2) и скорость дыхания после завершения фосфорилирования (V_4), выраженно ингибировала скорость потребления кислорода, сопряженного с фосфорилированием (V_3) изолированных митохондрий печени крысы. Обнаруженные изменения скоростей потребления кислорода приводили к уменьшению коэффициентов акцепторного и дыхательного контроля, коэффициент фосфорилирования при этом существенно не изменялся. Гипохлорная кислота существенно ингибировала один из ключевых ферментов цикла Кребса - α -кетоглутаратдегидрогеназу.

Через 24 часа после острой интоксикации крыс тетрахлорметаном наблюдали нарушение всех функций митохондрий. Скорость спонтанного дыхания V_1 уменьшалась

на 30%. Скорость сукцинат-зависимого потребления кислорода V_2 митохондриями, изолированными из печени интоксцированных крыс, несколько увеличивалась (на 25%), скорость дыхания митохондрий в состоянии 3 V_3 уменьшалась значительно (на 65%, $p < 0.001$). Скорость глутамат-зависимого потребления кислорода, сопряженного с фосфорилированием, V_3 уменьшалась весьма значительно (на 50%, $p < 0.01$). Полностью отсутствовал выход в четвертое метаболическое состояние V_4 . Коэффициенты акцепторного и дыхательного контроля приближались к единице, а коэффициент фосфорилирования резко уменьшался, что отражало снижение эффективности использования кислорода митохондриями для синтеза АТФ. Введение мелатонина в дозе 10 мг/кг, трижды, на фоне поражения печени CCl_4 не приводило к выраженному восстановлению функциональной активности митохондрий, однако, скорость фосфорилирующего окисления V_3 в данной группе животных была на 30% выше ($p < 0.05$) по сравнению с животными, получавшими только CCl_4 , при сукцинат-зависимом дыхании митохондрий, но не при использовании глутамата в качестве субстрата. Введении мелатонина контрольным животным увеличивало скорость глутамат-зависимого дыхания V_2 (на 60%, $p < 0.05$), скорость дыхания, сопряженного с фосфорилированием, V_3 (на 15%) и скорость дыхания митохондрий после завершения фосфорилирования V_4 (на 45%, $p < 0.05$) по сравнению с контрольными животными. Коэффициент дыхательного и акцепторного контроля снижались в данной группе животных по сравнению со значениями этих параметров у интактных животных. При сукцинат-зависимом дыхании скорость потребления кислорода митохондриями в состояниях 3 и 4 незначительно уменьшались (на 10%), что приводило к уменьшению коэффициента акцепторного контроля (на 15%) и коэффициента фосфорилирования (на 25%) по сравнению с интактными животными.

Таким образом, острая интоксикация крыс тетрахлорметаном в дозе 4г/кг массы тела животного приводила к выраженному нарушению фосфорилирующей и сопрягающей функций митохондрий печени, что проявлялось в резком уменьшении скорости потребления кислорода, сопряженного с фосфорилированием, и полной разбалансировке сопряжения дыхания и фосфорилирования. Введение мелатонина интоксцированным животным приводило к повышению скорости дыхания, сопряженного с фосфорилированием, т.е. к частичному восстановлению фосфорилирующей функции митохондрий. Мелатонин усиливал дыхательную активность митохондрий контрольных животных в случае использования в качестве субстрата глутамата.

Литература:

1. Duchen, M.R. (2004) *Molecular Aspects of Medicines*, 25, 365-451.
2. Jo, S.H., Son, M.K., Koh, H.J., Lee, S.M., Song, I.H., Kim, Y.O., Lee, Y.S., Jeong, K.S., Kim, W.B., Park, J.W., Song, B.J., and Huh, T.L. (2001) *J. Biol. Chem.*, 276, 16168-16176.
3. Martin, E.J., Racz, W.J., and Forkert, P.G. (2003) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 304, 121-129.
4. Krahenbuhl, L., Ledermann, M., Lang, C., and Krahenbuhl, S. (2000) *J. Hepatol.*, 33, 216-223.
5. Fosslie, E. (2001) *Ann. Clin. Lab. Sci.* 31, 25-67.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL DAMAGE OF RAT LIVER MITOCHONDRIA UNDER ACUTE CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED INTOXICATION

Dremza J.R., Cheshchevik V.T., Sudnikovich E.Ju., Zabrodskaya S.V.,
Lapshina E.A., Zavodnik I.B.

*Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch,
Grodno, Belarus*

Mitochondria play a key role in coordination of the main cellular functions. The aim of the present work was to investigate the mechanisms of oxidative damage of rat liver mitochondria in vitro under hypochlorite-induced oxidative stress and in vivo under acute carbon tetrachloride-induced intoxication in rats. Hypochlorous acid (50-300 μM), the main inflammatory agent, inhibited liver mitochondria respiratory activity, caused uncoupling in the respiratory and phosphorylation processes. The toxic damage of rat liver after 24 h of acute carbon tetrachloride-induced intoxication (4 g/kg, intragastrically) was accompanied by a decrease in basal respiration rate (by 30%) and a significant reduction in succinate- and glutamate-dependent respiration rate in state 3 (by 65%, $p < 0.001$, and by 50%, $p < 0.01$, respectively). The acceptor control ratio and respiration control ratio approached to 1, reflecting the loss of respiration control. The phosphorylation coefficient significantly decreased due to uncoupling of the oxidation and phosphorylation processes. The mitochondrial alterations were associated with oxidation of intramitochondrial GSH by 25% ($p < 0.05$), the marked inhibition of succinate dehydrogenase (complex II) by 35% ($p < 0.05$) and the rise of blood plasma nitric oxide level by 45% ($p < 0.05$). The impairment of mitochondrial respiratory function may result from inhibition of enzymatic activities in the respiratory chain and damage of mitochondrial membrane during intoxication and play a key role in the development of CCl_4 -induced hepatotoxicity. Melatonin prevented an increase in nitric oxide level in the blood plasma of intoxicated animals and it can be considered as effector that regulates mitochondrial function and nitric oxide bioavailability.

НАУЧНО ОБОСНОВАННЫЕ ПОДХОДЫ К ВЫБОРУ ТЕХНОЛОГИИ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ СИНЮХИ

Дубашинская Н.В., Хишова О.М.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

Создание экстракционных лекарственных средств (ЛС) является важным и приоритетным направлением фармацевтической технологии.

Технологии получения экстракционных ЛС являются достаточно известными, но когда речь идет об использовании новых видов лекарственного растительного сырья (ЛРС), эти технологии требуют индивидуальных подходов и разработок с точки зрения закономерностей экстрагирования ЛРС и содержания определенной группы биологически активных веществ (БАВ).

Целью данных исследований является разработка научно-обоснованной технологии жидкого экстракта корневищ с корнями синюхи голубой.

Для изучения закономерностей экстрагирования корневищ с корнями синюхи нами были определены важнейшие параметры, оказывающих влияние на качество получаемого экстракционного ЛС.

Одним из важнейших факторов для обеспечения наиболее полного экстрагирования БАВ является соотношение количества сырья и экстрагента. Для этого было проведено определение зависимости коэффициента спиртопоглощения корневищ с корнями синюхи голубой от измельченности и природы экстрагента. Установлено, что коэффициент спиртопоглощения корневищ с корнями синюхи возрастает с увеличением степени измельчения ЛРС и увеличением концентрации этанола [1].

Важной характеристикой, влияющей на содержание БАВ в готовом экстракционном ЛС, является коэффициент потерь на диффузию. Для определения потерь на диффузию использовали физическое моделирование. В качестве параметра оптимизации (y) выбрали величину потерь на диффузию. Расчеты показали, что величина потерь на диффузию увеличивается с возрастанием концентрации спирта этилового и увеличением измельченности ЛРС и уменьшается при увеличении соотношения сырье:экстрагент. Наиболее значимыми факторами, оказывающими влияние на величину потерь на диффузию, являются соотношение сырье:экстрагент и измельченность ЛРС.

При разработке технологии жидкого экстракта корневищ с корнями синюхи различной измельченности в качестве экстрагента нами использовались водно-спиртовые растворы, поэтому целесообразно сравнить коэффициент набухания (КН) для корневищ с корнями синюхи различной измельченности для водного раствора и спирта этилового различной концентрации. Результаты исследования показывают, что КН корневищ с корнями синюхи зависит от измельченности ЛРС – чем больше измельченность, тем коэффициент набухания выше – и не зависит от природы использованных в эксперименте экстрагентов.

При набухании ЛРС можно выделить две стадии – продвижение экстрагента внутрь кусочков ЛРС и увеличение объема кусочков ЛРС вследствие явления набухания. Для процесса экстрагирования определенное значение имеют количество экстрагента, поглощенного ЛРС, и динамика поглощения экстрагента, которая связана с процессом набухания ЛРС. Поглощенный ЛРС экстрагент образует внутренний сок, количество которого является важной константой для ЛРС различной измельченности [2]. Нами определены коэффициент внутренней поглощаемости (КВП) и коэффициент полной поглощаемости (КПП) корневищ с корнями синюхи. Величина КПП корневищ с корнями синюхи в незначительной степени зависит от измельченности ЛРС и концентрации спирта. С увеличением концентрации спирта происходит уменьшение КПП корневищ с корнями синюхи.

Результаты исследования показывают, что КВП уменьшается с увеличением концентрации этанола. В то же время в этих пределах измельченности ЛРС КВП меняется незначительно. Происходит некоторое увеличение КВП с уменьшением измельченности.

На основании проведенных исследований установлено, что с увеличением степени измельчения корневищ с корнями синюхи полная поглощаемость возрастает более заметно, чем внутренняя.

Дальнейшие исследования были связаны с выбором рациональной технологии

получения жидкого экстракта корневищ с корнями синюхи. Для разработки оптимальной комбинации измельченности ЛРС, концентрации экстрагента и способа получения жидкого экстракта корневищ с корнями синюхи использовали метод математического планирования эксперимента латинский квадрат 3×3 [3].

Нами было изучено влияние следующих факторов на содержание ТС в жидком экстракте корневищ с конями синюхи голубой:

- А – концентрация этанола;
- В – способ получения жидкого экстракта;
- С – измельченность ЛРС.

Оценку значимости факторов проводили с помощью дисперсионного анализа. При сравнении полученных F-отношений с табличным (14,00) значимыми оказались факторы А и В, так как $F_a > F_{табл}$ и $F_b > F_{табл}$.

Наиболее значимыми факторами, оказывающими влияние на выход ТС при получении жидкого экстракта корневищ с корнями синюхи голубой, являются способ получения жидкого экстракта и концентрация этанола.

Таким образом, предложенная технология жидкого экстракта корневищ с корнями синюхи заключается в экстрагировании корневищ с корнями синюхи с измельченностью 0,5 мм 40 % этанолом способом с делением сырья на неравные части.

Литература:

1. Schulz, O.E. Versuche zur Verbessern von Extraktionsausbeuten / O.E. Schulz, J. Klotz // Grundlagen der galenische Pharmazie. Arzneimittel-Forsch. - 1954. – P. 325 – 327.
2. Пономарев, В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья / В.Д. Пономарев. – М.: Медицина. - 1976. – 238 с.
3. Минина, С.А. Химия и технология фитопрепаратов / С.А. Минина, И.Е. Каухова. – Москва: ГЭОТАР-МЕД. - 2004 – С. 76 – 93, 97 – 103, 122 – 125, 205 – 220.

IS SCIENTIFIC THE REASONABLE APPROACHES A CHOICE OF TECHNOLOGY EXTRACTIONS RHIZOMES WITH ROOTS POLEMONIUM CAERULEUM

Dubashynskaya N.V., Khishova O.M.

Vitebsky State Medical University, Vitebsk, Belarus

The major laws extractions rhizomes with roots of *Polemonium caeruleum* are investigated. Is shown, that the rational technology of reception of a liquid extract of *Polemonium caeruleum* consists in extractions rhizomes with roots of *Polemonium caeruleum* with with degree of crushing of medicinal vegetative raw material of 0,5 mm by a way repercolation with the completed cycle and with division of medicinal vegetative raw material into unequal parts, using in quality extragent 40 % ethanol.

ВСАСЫВАНИЕ ЖЕЛЕЗА У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНОМ УРОВНЕ ФЕРРИТИНА СЫВОРОТКИ КРОВИ

Жемойтяк В.А., Лещинская М.Р.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Пациенты с хронической гастродуоденальной патологией относятся к группе риска по дефициту железа и, в связи с этим, могут нуждаться в лечении препаратами железа. Как правило, показаниями для их назначения являются пониженный уровень гемоглобина и сывороточного железа.

Считают, что компенсаторное повышение усвоения железа в желудочно-кишечном тракте является чувствительным критерием обеднения запасного фонда железа. При этом повышается захват его слизистой оболочкой из просвета кишечника и уменьшаются потери при десквамации эпителия.

О количестве депонированного в организме железа судят по уровню ферритина в сыворотке крови (СФ). У здоровых лиц всасывание железа зависит от запасов этого микроэлемента в организме, что можно оценить по уровню СФ. При высоком уровне СФ отмечается значительное уменьшение абсорбции, а у здоровых людей положительный баланс железа невозможен, если уровень сывороточного ферритина превышает 60 мкг/л.

Целью нашей работы являлось определение особенностей всасывания железа у детей с хронической гастродуоденальной патологией (ХГДП) - выявление у них связи между концентрацией ферритина в сыворотке крови и абсорбцией железа.

Для оценки интенсивности абсорбции железа был использован железоабсорбентный тест (ЖАТ). Использовали стандартную дозу сульфата железа, 1 мг/кг массы тела по элементарному железу. Оценивали исходный уровень сывороточного железа (СЖ), уровень его после нагрузки и высчитывали прирост сидеремии в процентах. Тест был проведен у 72 детей с ХГДП (I группа) и у 16 детей, у которых патологии желудка и двенадцатиперстной кишки выявлено не было (II группа).

Корреляционный анализ показал, что у детей с интактным желудком и ДПК (II группа) с понижением уровня СФ увеличивается прирост СЖ после нагрузки ($r = -0,75$, $p < 0,02$). У больных же с ХГДП (I группа) линейной связи между уровнем СФ и увеличением СЖ не выявлено. Даже при уровне СФ больше 100 мкг/л у 30% детей наблюдался прирост уровня СЖ после нагрузки. Полученные данные говорят о том, что у детей с ХГДП имеет место нарушение «ферритинового механизма» регуляции абсорбции железа, в результате чего железо продолжает всасываться, несмотря на достаточное количество этого элемента в организме.

Величина усвоения железа не является постоянной, а может изменяться у одного и того же человека. Для обострения хронической гастродуоденальной патологии характерно повышение уровня СФ с постепенным его снижением при снижении активности воспалительного процесса.

Сравнение исходной концентрации СФ при поступлении пациентов в стационар показало, что у больных с положительной динамикой СФ она была достоверно ниже, чем у детей с отрицательной динамикой (26,3±3,2 мкг/л и 77,7±16,4 мкг/л соответственно). Перед выпиской из стационара достоверной разницы в уровне СФ между этими группами детей не выявлено (54±12,6 мкг/л и 33,2±4,4 мкг/л)

Наблюдение за концентрацией СФ у детей с ХГДП показало, что при обострении этот показатель увеличивается, а в ходе проводимого лечения снижается. Проведение ЖАТ выявило значительно меньшее увеличение уровня СЖ после нагрузки железа у детей с отрицательной динамикой СФ по сравнению с больными с положительной динамикой за время госпитализации ($13,9 \pm 8,8\%$ и $42,4 \pm 0,3\%$ соответственно, $p < 0,05$). Таким образом, в период уменьшения уровня СФ у больных с ХГДП имеется снижение абсорбции железа. Это свидетельствует о том, что всасывание железа при хронической гастродуоденальной патологии зависит не от уровня ферритина в сыворотке крови, а от стадии воспалительного процесса. Это совпадает с данными литературы, где имеются указания, что при хронических очагах инфекции и в периоде реконвалесценции может иметь место снижение абсорбции железа.

Выводы:

1) у детей, не имеющих воспалительного процесса в желудке и двенадцатиперстной кишке, интенсивность абсорбции железа зависит от уровня СФ – при снижении его уровня наблюдается компенсаторное повышение усвоения железа желудочно-кишечным трактом;

2) у больных с ХГДП нет линейной зависимости между уровнем СФ и активностью всасывания железа;

3) абсорбция железа при наличии у ребенка гастродуоденальной патологии зависит не столько от количества депонированного железа, сколько от стадии заболевания, что необходимо учитывать при назначении препаратов железа.

STUDIES ON THE RELATIONSHIPS BETWEEN THE IRON ABSORPTION AND THE LEVEL OF SERUM FERRITIN IN INFANTS WITH CHRONIC GASTROINTESTINAL DISEASES

Jemoitiak V.A., Leschinskaja M.R.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

The evidence that iron stores regulate iron absorption is a setpoint theory nowadays. However, much remains unknown of the key mechanisms. We observed 72 children at the age of 6-14 years with chronic gastritis and duodenitis. Iron stores were assessed by measurement of serum ferritin (SF). During hospitalization SF of 49 children increased (1-st group) and that of 32 children decreased (2nd group). The evaluation of iron absorption by the oral iron load test was studied. After an overnight fast each of the patients received 1 mg Fe⁺⁺ per kg in as a commercial Ferroplex preparation tablet. Before the intake and 24 hrs. after the intake of Fe⁺⁺-sulphate, blood was withdrawn and serum iron concentrations were determined. Loading by iron has shown that the gain of the serum iron level in the 1-st group was higher than in the 2nd (42.4 (03% and 13.9 (8.8% , $p < 0.05$). For an estimation of the influence of the received dose of iron on the changes of SF, its level was determined before and after the Fe⁺⁺-sulphate load. After loading, the 1st group showed increased SF by 0.31 (0.2ng/ml), and decreased by 2.4 in the second group (1.0ng/ml). From these data it was concluded that administration of oral iron in a dose of 1 mg Fe⁺⁺/kg has no influence on the level of SF.

Our results suggest that dynamics of SF plays a major role in iron absorption.

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ВОСПРИИМЧИВОСТИ К ДЕЙСТВИЮ АНАЛЬГЕТИКОВ У МЫШЕЙ

Жукова И.А., Павленко В.С., Буловацкая И.В., Никифорова И.Н.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

По литературным данным, существуют половые различия в восприимчивости к действию многих обезболивающих препаратов опиоидной природы у грызунов [1]. Исходя из этих данных, анальгетический эффект таких средств в большей степени проявляется в отношении самцов, нежели самок. Кроме того, половые различия в чувствительности к действию анальгетиков у разных генетических линий грызунов выражены в разной степени. Так, наибольшие различия в отношении данной чувствительности отмечены среди самцов и самок крыс линий F344 и F344-Sasco; средние различия – у линий ACI, DA, Lewis, Sprague Dawley, Wistar и Wistar-Kyoto и наименьшие – у линий Long Evans-Blue Spruce, Long Evans, Brown Norway и Holtzman [2]. Представляло определенный интерес сравнение восприимчивости к действию анальгетических препаратов самцов и самок мышей.

Целью работы являлось исследование влияния стандартного обезболивающего препарата опиоидной природы трамадола на латентный период болевой реакции самцов и самок мышей СВА в тестах Hot Plate и Tail Flick и самцов и самок мышей ICR в тесте «уксусных» корчей.

Тест Hot Plate заключается в регистрации латентного периода болевой реакции, вызванной термическим раздражением конечностей мыши при помещении ее на нагретую до определенной температуры металлическую пластинку. В тесте Tail Flick регистрируется латентный период болевой реакции, проявляющейся в отдергивании животным хвоста при действии на него тепловым пучком. В данных тестах болевую чувствительность самцов и самок мышей определяли до введения и через разные промежутки времени после внутрибрюшинного введения анальгетика. Латентный период болевой реакции подсчитывали в абсолютных временных единицах (секунды) и в процентах (% MPE – maximal possible effect).

Тест корчей, вызванных внутрибрюшинным введением 0,75 % раствора уксусной кислоты, моделирует ситуацию возникновения болей при раздражении висцеральных ноцицепторов брюшной полости. Корчи проявляются в виде сокращений абдоминальной мускулатуры, выгибания спины и вытягивания задних конечностей. Анальгетик вводили в желудок за 1 час до введения раствора кислоты. Подсчитывали количество корчей, наблюдаемых у животных за 20 минут.

У мышей-самцов СВА после однократного внутрибрюшинного введения анальгетика в диапазоне доз от 5 до 30 мг/кг уже через 15 минут после введения наблюдалось удлинение латентного периода болевой реакции в тесте Hot Plate. Анальгетическое действие, наиболее выраженное после дозы 20 мг/кг, продолжалось более трех часов. В то же время в группе самок эффект того же препарата, проявляющийся в виде статистически достоверного снижения порога болевой чувствительности, зафиксирован после введения препарата в дозах 30, 20 и 5 мг/кг только на одном временном показателе, соответственно, через 3 часа, час и 15 минут.

В тесте Tail-Flick наблюдалось еще более выраженное половое различие мышей в восприимчивости к действию анальгетика. Так, если у самцов удлинение латентного

периода болевой реакции зафиксировано после введения препарата в дозах, начиная с 10 мг/кг, то у самок статистически достоверных изменений длительности измеряемого параметра по сравнению с контролем не было зарегистрировано ни после одной из исследованных доз, хотя тенденция к его росту прослеживалась.

В тесте корчей у самцов анальгетическая активность препарата при введении в дозах 30 и 20 мг/кг составила, соответственно, 95 % и 77 %, а у самок – 81% и 31 %.

Результаты сравнительного исследования анальгетического действия трамадола в отношении самцов и самок мышей CBA и ICR в тестах Hot Plate, Tail-Flick и «уксусных» корчей согласуются с литературными данными о существовании половых различий в чувствительности к действию опиоидных анальгетиков у крыс.

Литература:

1. Sex-related differences in mechanical nociception and antinociception produced by mu- and kappa-opioid receptor agonists in rats / Barrett A.C., Smith E.S., Picker M.J. // Eur J Pharmacol. – 2002. – 4, 452(2). – P. 163–173.

2. Pharmacogenetic analysis of sex differences in opioid antinociception in rats / Terner J.M. [et al.] // Pain. – 2003. – 106(3). – P. 381–391.

SEX DIFFERENCES IN THE SUSCEPTIBILITY TO ANALGESICS IN MICE

Zhukova I.A., Pavlenko V.S., Bulovatskaya I.V., Nikiforova I.N.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The obtained results prove the existence of sexual differences in the susceptibility to analgesics in the experiments with mice CBA and ICR.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ КАК ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ ЭЛЕМЕНТ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ В СВЯЗИ С ВОЗДЕЙСТВИЕМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Застенская И.А., Чашинская Т.И., Марусич Н.И., Шуляковская О.В.

Республиканский научно-практический центр гигиены, Минск, Беларусь

В процессе жизнедеятельности человек подвергается влиянию множества химических веществ, содержащихся в питьевой воде, продуктах питания, вдыхаемом воздухе. Среди этих химических веществ наибольшую опасность в контексте хронических эффектов представляют стойкие в окружающей среде и биоаккумулирующие химические вещества, такие как стойкие органические загрязнители (хлорорганические пестициды, полихлорированные бифенилы, диоксины) и тяжелые металлы (ртуть, свинец, кадмий, хром). В настоящее время получены научные подтверждения выраженных опасных свойств представителей этой группы химикатов – иммуно- и генотоксичность, канцеро- и мутагенность, способность вызывать репродуктивные расстройства и нарушение деятельности эндокринной системы. Они характеризуются способностью вызывать системные эффекты, но, как правило, не вызывают специфические заболевания, что облегчало

бы возможность установления их роли в формировании заболеваемости населения в связи с воздействием окружающей среды. Тот факт, что действующие концентрации и концентрации в объектах окружающей среды невысоки, также осложняет оценку воздействия.

Способность стойких биоаккумулирующих химических веществ к накоплению в организме в связи с очень длительных периодом полувыведения (например, период полувыведения диоксинов и фуранов составляет по разным оценкам 5-8 лет) в настоящее время используется в целях ведения биологического мониторинга для объективизации ответа организма на действие токсичных химических веществ. Методологически биологический мониторинг базируется на определении биомаркеров – экспозиции, эффекта и чувствительности.

Определение содержания контаминатов в биологических субстратах человека, в частности грудном молоке, позволяет в популяционных исследованиях оценить уровень накопления загрязнителей и оценить возможное влияние на новорожденных [1].

Задачей настоящего исследования была скрининговая оценка контаминации грудного молока жительниц Республики Беларусь стойкими органическими загрязнителями (СОЗ) (полихлорированные бифенилы, хлорорганические пестициды) и выявление взаимосвязи между наличием установленных источников элиминации химических веществ в окружающую среду и источников поступления СОЗ в организм.

В исследовании принимали участие 984 женщины из различных регионов республики. Отбор грудного молока осуществлялся на 4-5 сутки после родов в объеме 50 мл. Для получения дополнительной информации о биометрических данных, характере питания, месте и продолжительности проживания, состоянии здоровья родильницы и новорожденного проводили анкетирование добровольцев, согласившихся на сбор проб грудного молока, и медицинских работников, наблюдавших за состоянием здоровья матери и ребенка, по специально разработанной для этих целей анкете. Содержание хлорорганических пестицидов (ДДТ, ДДЕ, суммы ДДТ, гексахлорциклогексан (ГХЦГ) и его изомеры (α, β, γ) гексахлорбензол (ГХБ)) и полихлорированных бифенилов (ПХБ-28, ПХБ-52, ПХБ-101, ПХБ-118, ПХБ-153, ПХБ-180) определяли методом газовой хроматографии в соответствии со специально разработанной для этих целей «Методика одновременного определения остаточных количеств полихлорированных бифенилов и хлорорганических пестицидов в грудном молоке и продуктах животноводства методом газовой хроматографии». В целях оценки источников загрязнения окружающей среды и организма человека использовали существующие данные [2, 3].

В результате проведенных исследований было установлено, что концентрация контаминатов в грудном молоке варьирует в широком диапазоне: α -ГХЦГ – от 0,1 до 0,5 мкг/л (единицы измерения идентичны для всех показателей), β -ГХЦГ – 0,1–18,1; γ -ГХЦГ – 0,1–2,1; сумма изомеров ГХЦГ – 0,1–36,6; ГХБ – 0,1–13,3; ДДТ – 0,1–6,6; ДДЕ – 0,1–58,6; ДДД – 0,1–2,1; сумма ДДТ и изомеров – 0,1–54,0; ПХБ-28 – 0,1–5,3; ПХБ-52 – 0,5–48,2; ПХБ-101 – 0,1–11,5; ПХБ-118 – 0,1–4,4; ПХБ-153 – 0,1–10,5; ПХБ-138 – 0,1 – 7,9; ПХБ-180 – 0,1–49,2. Были обнаружены статистически значимые различия в концентрациях отдельных контаминатов в зависимости от места проживания доноров. Так, концентрация ДДТ и его изомеров в г. Бресте выше,

чем в других регионах республики, тогда как наиболее высокие концентрации ПХБ обнаружены в Витебске и Могилеве, а ПХБ–53 – в г. Лида. При этом далее не во всех случаях обнаружены прямые корреляции между наличием значимых промышленных источников выбросов в окружающую среду, в частности ПХБ, и их концентрацией в грудном молоке. Это определяет необходимость изменения подходов к выбору экспонируемых групп населения при оценке взаимосвязи состояния здоровья с качеством окружающей среды, поскольку в настоящее время одним из основных критериев определения экспонируемых групп населения является наличие вблизи зоны проживания источников выбросов.

Общепризнано, что основным источником СОЗ для организма являются продукты питания и особенно те из них, которые обогащены жиром. Проведенный ретроспективный анализ не позволил выявить прямую взаимосвязь между содержанием хлорорганических соединений в окружающей среде и содержанием их в продуктах питания (по показателям несоответствия установленным предельно допустимым концентрациям). При этом, при оценке «валового» загрязнения продуктов питания хлорсодержащими пестицидами с использованием упрощенного подхода определения среднестатистического показателя всех проведенных исследований, выраженного в абсолютных значениях, была обнаружена положительная корреляция с данными по контаминации грудного молока. Кроме того, была обнаружена слабая корреляционная зависимость характера питания и уровня загрязнения грудного молока. Так, у лиц, в рационе которых преобладают продукты питания растительного происхождения, концентрация СОЗ была достоверно ниже, что в целом соответствует результатам проведенных другими авторами исследований и химическим характеристикам СОЗ, таким как жирорастворимость и способность к кумуляции в жировых субстратах.

Таким образом, представляется возможным признать, что включение биологического мониторинга в качестве одного из основных элементов при выявлении взаимосвязи между состоянием здоровья и качеством окружающей среды позволяет объективно выявлять и формировать группы населения для проведения эпидемиологических исследований, а также выявлять лица, отличающиеся повышенной способностью накапливать СОЗ и, соответственно, проводить индивидуальную профилактику. Кроме того, это позволяет корректировать подходы к сбору и накоплению данных в целях выявления уровня детерминации здоровья в связи с состоянием окружающей среды.

Литература:

1. Hooper, K. Breast milk monitoring programs (BMMPs): worldwide early warning system for polyhalogenated POPs and for targeting studies in children's environmental health / K. Hooper// *Environmental-Health-Perspectives*. – 1999. - № 107(6). – P. 429-430.
2. Какарека, С.В. Стойкие органические загрязнители: источники и оценка выбросов / С.В. Какарека, Т.И. Кухарчик, Х.В. Хомич. - Минск: РУП Минсктиппроект, 2003. – 220 с.
3. Национальный план выполнения обязательств, принятых Республикой Беларусь по Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях, на 2007–2010 годы и на период до 2028 года / М-во природных ресурсов и охраны окружающей среды Респ. Беларусь, Глобальный экологический фонд, Всемирный банк. - Минск:

BIOLOGICAL MONITORING AS AN ESSENTIAL ELEMENT IN EVALUATION OF ENVIRONMENT IMPACT ON HEALTH

Zastenskaya I.A., Chashinskaya T.I., Marusich N.I., Shulyakovskaya O.V.

Republican Scientific Practical Center of Hygiene, Minsk, Belarus

Taking into account the significant adverse impact of permanent organic pollutants on health and the role of important rope of biological monitoring in determining relationships between human health and environment, a screening study of the contamination of breast milk of 984 women in different regions of Belarus was conducted. A wide variation in the levels of contamination by organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls was revealed. No significant relationships were revealed between the industrial sources to air pollution and the level of breast milk contamination. Lack of necessary information to investigate the relationships between the breast milk and food pollution was proved. The conclusion is that biological monitoring is a necessary tool in determining the relationships between human health and environment and also enables to reveal sensitive individuals to take preventive measures.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ КОФЕРМЕНТА А И АКТИВНОСТИ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ ФЕРМЕНТОВ АТФАЗЫ И АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ГОМОПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

Катковская И.Н., Шевалье А.А., Омелянчик С.Н.

*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь*

В функционировании нервной клетки синаптическая мембрана играет важную роль, участвуя в ионном транспорте, механизмах регуляции рецепторной и ферментативной активности, критических для осуществления специфической функции нервной ткани – генерации и проведения нервных импульсов [1]. Гомопантотеновая кислота (ГПК) является ноотропным средством, способным легко проникать через гематоэнцефалический барьер и накапливаться в структурах мозга, взаимодействуя с нейронами на уровне синаптической мембраны. Основным фармакологический механизм действия ГПК – ГАМК-рецепторный. Гомопантотенат является антагонистом пантотеновой кислоты и способен модулировать холинэргические эффекты, вероятно через биосинтез ацетилхолина. Побочным эффектом данного антивитамина является эпизодическое развитие гепатической энцефалопатии вследствие неспособности печени утилизировать токсины, нарушающие функцию мозга. Также известно, что ГПК в определенных условиях является своеобразным стимулятором системы кофермента А (КоА) за счет эффекта мобилизации кофермента из депо ацил-КоА, в частности, включения альтернативной системы стабилизации уровня кофермента за счет механизма активации ацил-КоА-гидролазных реакций [2].

Целью данной работы явилось исследование активности мембраносвязанных ферментов ацетилхолинэстеразы (АХЭзы) и Na^+/K^+ -АТФазы в синаптосомально-митохондриальной фракции больших полушарий головного мозга, а также системы КоА в переднем мозге крыс. Рассматривалось установление возможных корреляционных зависимостей между исследуемыми параметрами в условиях субхронического введения антивитамина – ГПК. Исследование проводилось на крысах самках линии Wistar массой 180-200 г на фоне ежедневного внутривентрикулярного введения гомопантотеновой кислоты в течение 7 дней в дозе 300 мг/кг массы тела.

Синаптосомально-митохондриальную фракцию больших полушарий головного мозга крыс выделяли методом дифференциального центрифугирования, применяя в качестве среды выделения 0,32 М раствор сахарозы на 0,01 М Трис-НСl буфере с добавлением 0,5 мМ ЭДТА (рН 7,4). Мозг максимально быстро извлекали, промывали, выделяли большие полушария и гомогенизировали в вышеописанной среде выделения с разведением 1:4. Гомогенат центрифугировали 10 мин при 1700 г, осадок отбрасывали, а супернатант центрифугировали 20 мин при 10 000 г, получая надмитохондриальную фракцию и осадок, содержащий синаптосомально-митохондриальную фракцию, который ресуспензировали в среде выделения. Всю процедуру осуществляли при 4°C.

Активность мембраносвязанной АХЭ определяли спектрофотометрически, используя в качестве субстрата ацетилтиохолин, образующий с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой окрашенный комплекс холин-SH-ДТНБ. Активность Na^+ , K^+ -АТФазы синаптосомальных мембран определяли по наработке неорганического фосфата после добавления АТФ. Белок определяли по методу Лоури.

Результаты исследования показали, что курсовое введение ГПК сопровождалось существенными изменениями в функциональном состоянии синаптосомальной мембраны больших полушарий, что подтверждалось достоверным ингибированием мембраносвязанных ферментов: ацетилхолинэстеразы и Na^+/K^+ -АТФазы. Как известно, активность Na^+ , K^+ -АТФазы как интегрального мембранного белка, ответственного за поддержание ионного гомеостаза, является важным маркером состояния мембран и выживаемости клеток. Наблюдаемое нами снижение активности фермента согласуется с данными о значительной степени восприимчивости его к воздействию продуктов окислительного стресса [3], который, вероятно, мог быть следствием введения ксенобиотического нейротропного соединения. Ингибирование ацетилхолинэстеразы также рассматривается как маркер нейротоксичности, поскольку оно может иметь тяжелые последствия для нейрона. Эти данные указывают на возможность системного действия гомопантотената на ЦНС, выходящего за рамки ГАМК-эргического эффекта, что диктует необходимость дальнейшего изучения механизмов действия этого лекарственного средства. Не случайно введение ГПК предлагается как модель «пантотенаткиназоассоциированной» нейродегенерации [2], что предлагает вмешательство соединения в систему биосинтеза КоА (пантотенаткиназа является ключевым ферментом биосинтеза).

В данном варианте субхронического введения ГПК не оказывает достоверного воздействия на уровень свободного КоА, а также фракций кислоторастворимого КоА и короткоцепочечных ацилов КоА в гомогенате переднего мозга. Однако стабильность системы биосинтеза КоА в данных условиях требует дополнительных исследований.

Таким образом, данная экспериментальная модель может использоваться в качестве оценки функционального состояния синапсосомальной мембраны, что дает возможность слежения адаптационных изменений нервных клеток в норме и патологии и изучения механизмов нейропротекции, что может послужить основой для последующих фармакологических исследований и разработки новых нейропротективных препаратов.

Литература:

1. Chakraborty H., Sen P., Sur A., Chatterjee U., Chakrabarti S. Age-related oxidative inactivation of Na⁺, K⁺-ATPase in rat brain crude synaptosomes // *Exp. Gerontol.* – 2003. – Vol. 38. – P. 705–710.
2. Zhang Y.M., Chohnan S., Virga K.G. Chemical knockout of pantothenate kinase reveals the metabolic and genetic program responsible for hepatic coenzyme A homeostasis // *Chem. Biol.* – 2007. – Vol. 14, № 3. – P. 291-302.
3. Болдырев А.А., Куклей М.Л. Свободные радикалы в нормальном и ишемическом мозге // *Нейрохимия.* – 1996. – Т. 13., № 4. – С. 271–278.

CHANGE OF PARAMETERS OF COENZYME A SYSTEM AND ATPase AND ACETYLCHOLINESTERase MEMBRANE-BOUNDING ENZYME ACTIVITIES ON BACKGROUND OF HOMOPANTOTHENIC ACID ADMINISTRATION

Katkouskaya I.N., Shevalye A.A., Omelyanchik S.N.
*Institute of Pharmacology and Biochemistry of NAS of Belarus, Grodno Branch,
Grodno, Belarus*

The chronic administration of homopantothenic acid caused a decrease of acetylcholinesterase and Na⁺, K⁺-ATPase activities of the large hemispheres. Is not observed of significant changes of the contents free coenzyme A and its fractions in a forebrain in these conditions.

ПРОДУКТЫ ИННОВАЦИОННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ ПЕРЕРАБОТКИ ПРИРОДНОГО СЕВЕРНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО БИОСЫРЬЯ

¹Кершенгольц Б.М., ²Аньшакова В.В., ¹Шеин А.А., ¹Хлебный Е.С.

¹ ИБПК СО РАН, Якутск, Россия;

² ГОУ ВПО ЯГУ им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия

Северное биосырье является особо ценным по своему биохимическому составу. Установлено, что по мере повышения степени экстремальности условий произрастания растений (обитания животных), например, на северо-востоке России, в определенном интервале интенсивности климатических стресс-факторов, в их тканях в 1,8–2,5 раза увеличивается общее содержание и, главное, более чем в 3 раза – структурное разнообразие (количество стерео- и структурных изомеров, гомологов, производных различной степени окисленности и неопределенности) биологически активных

веществ (БАВ) регуляторного и защитного действия [1]. Благодаря этому увеличивается адаптивный потенциал организма, в котором они синтезируются, повышается его устойчивость к действию экстремальных климатических и антропогенных (в том числе техногенных) факторов среды. Повышение устойчивости носит неспецифический характер. То есть, развиваясь в ответ на действие одного экстремального фактора (например, климатического), такая адаптация приводит к повышению устойчивости данного организма и к действию других экстремальных факторов (например, радиационного или химиотоксического). Причиной этого является общность основных физиолого-биохимических механизмов адаптации к действию различных по природе стресс-факторов [2].

Так как эти БАВ участвуют в регуляции биохимических реакций первичного обмена веществ (общего для различных видов организмов, включая человека) либо функционирования систем, защищающих клетки и организм от действия экзо- или эндогенных токсинов (в том числе мутагенов) – антиоксидантных, репарации ДНК, клеточного апоптоза, иммуномодуляторных, антибиотических и других, то они являются БАВ неспецифического действия. То есть, будучи выделенными из тканей одних видов растений (животных), они способны проявлять свою регуляторную, защитную активность и по отношению к организмам других видов, включая человека [3]. По мере усложнения состава комплекса БАВ, роста степени сбалансированности по группам веществ всего спектра регуляторного и защитного действия его биологические эффекты усиливаются, а побочные отрицательные эффекты снимаются. Такие воздействия являются наиболее биогенными, так как известно, что ключевые регуляции обмена веществ *in vivo* осуществляются не чистыми химическими соединениями, а набором веществ, близких по структуре и обладающих близкими по количественным значениям свойствами (регуляторные пептиды мозга, иммуномодуляторы-интерлейкины, мембранные антиоксидантные комплексы, простагландины и многие другие).

Следует подчеркнуть, что такие комплексы БАВ практически невозможно получить иным (химиосинтетическим, генноинженерным) путем.

Глубокая переработка не только продукции оленеводства и коневодства (включая эндокринное сырье), но и их кормовой базы (прежде всего слоевищ лишайников – основного корма оленей) происходит с использованием новейших, нетрадиционных нано-физико-химических биотехнологий.

Особенностями разрабатываемых биотехнологий является их нано-физико-химическая основа, благодаря которой достигается максимальная экономичность и экологичность. Нами используются механохимические биотехнологии, а также технологии обработки биосырья газами в состоянии сверхкритической жидкости.

Разработаны биопрепараты, имеющие патенты РФ и разрешительную документацию Роспотребнадзора РФ:

1) Серия иммуномодуляторных, адаптогенных, радиопротекторных препаратов на основе биоактивных веществ, выделяемых из пантов северного оленя, тканей родиолы розовой, рододендрона золотистого и других растений Якутии.

2) Природные лишайниковые аминокислоты-β-олигосахариды – биодетоксиканты алкогольных токсинов; экзо- и эндотоксинов различной природы, способные выводить из организма избытки холестерина при атеросклеротических заболеваниях и нормализовать уровень глюкозы крови у больных сахарным диабетом II типа.

3) Природные лишайниковые антибиотические комплексы, эффективные даже при лечении лекарственно устойчивых форм бактериальных инфекций, включая лекарственно устойчивые формы туберкулеза.

4) Природные антиоксиданты и консерванты медицинского и пищевого назначения с низкой себестоимостью.

5) Антибиокоррозийные присадки, обеспечивающие устойчивость металлических и полимерных технических сооружений от биокоррозии.

Новейшие биотехнологии, направленные на производство конечных продуктов из северного биосырья с заданными свойствами и высокой рыночной и потребительской стоимостью, позволят решить актуальные экономические и социальные проблемы северных регионов России.

Литература:

1. Кершенгольц Б.М., Филиппова Г.В., Иванова И.К., Журавская А.Н., Каширцев В.А. Изменения качественного и количественного состава эфирных масел польной Якутии в зависимости от экстремальности погодных условий // Наука и образование, №1. 2002. С.45-49.

2. Кершенгольц Б.М. Неспецифические биохимические механизмы адаптации организмов к экстремальным условиям среды // Наука и образование. - Якутск: изд. ЯНЦ СО РАН, 1996. - №3. - С.130-138.

3. Кершенгольц Б.М. Ремигайло П.А., Шеин А.А., Кершенгольц Е.Б. Природные биологически активные вещества из тканей растений и животных Якутии: особенности состава, новые технологии, достижения и перспективы использования в медицине // Дальневосточный медицинский журнал. Приложение №1, 2004. С.25-29.

BIOTECHNOLOGIES OF PROCESSING OF THE NATURAL NORTH RAW MATERIAL FOR MANUFACTURE OF HIGH USE AND MARKET VALUE PRODUCTS

¹Kerchengolts B.M., ²Anshakova V.V., ¹Sheyin A.A., ¹Khlebnii E.S.

¹*Institute for Biological Problems of Cryolithozone, SB RAS, Yakutsk, Russia;*

²*Yakutsk State University, Yakutsk, Russia*

Nowadays on the North-East of Russian Federation biotechnological sector practically doesn't exist, although total volume of the reproducible bio raw material (containing much more of the biological active substances (in 1,5÷2,5 times) than similar species from Middle Russia) unlimited. Nano-physico-chemical base which helps to reach the highest level of economy and ecological compatibility is peculiarity of this biotechnologies, for example of mechanochemical biotechnologies and processing of the natural raw material by gases in state of supercritical fluid.

At this moment there are preparations which couldn't be get by another (by genetic engineering, synthetic) way with patent and licencing documentations of Russian Federal Consumer Rights Protection and Human Health Control Service: 1) Line of immuno-modulatory, adaptogenic, radioprotective preparations on basis of biological active substances obtaining from young reindeer's antlers, *Rhodiola rosea*, *Rhododendron aureum* and another plants of Yakutia; 2) Natural lichen amino- β -oligosaccharides – bio detoxicants of

alcohol toxins, exo- and endotoxins of different character – can take redundant cholesterol out of organism and normalize blood glucose levels of people with II type of diabetes; 3) Natural lichen antibiotic complexes effective even for cure of medicinal-resistant bacteriological infections, including tuberculosis; 4) Natural antioxidants and preservatives of medical and food purpose with low cost price; 5) anti-biocorrosion additive, providing resistance of metallic and polymeric technical constructions to biocorrosion.

Newest biotechnologies aimed at production of high use and market value final products with specified properties using north natural raw material make it possible to solve urgent economic and social problems of north Russia's regions.

ПОЛИМОРФИЗМ МОНООКСИГЕНАЗ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ РАЗНОЙ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ДЕЙСТВИЮ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

¹Киселев П.А., ¹Бовдей Н.А., ²Гончарова Л.В., ³Шунк В.-Х., ⁴Шварц Д.

¹ *Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь;*

² *Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь;*

³ *Центр молекулярной медицины им. М. Дельбрюка, Берлин, Германия;*

⁴ *Институт клинической фармакологии медицинского факультета
Университета им. Гумбольдта, Берлин, Германия*

Индивидуальная склонность к некоторым патологиям частично может быть связана с генетической вариабельностью ферментов, ответственных в организме человека за превращение физиологически активных веществ эндогенного и экзогенного происхождения [1]. Одним из таких ферментов с широкой межэтнической вариабельностью является цитохром P-4501A1 (CYP1A1), принимающий участие в активации проканцерогенных веществ и превращении стероидных гормонов.

Известно, что ген, кодирующий цитохром P-4501A1, полиморфен. В частности, наряду с диким типом гена цитохрома P-4501A1 обнаружено 10 его мутированных вариантов. Причем некоторые из них экспрессируют гемопротеид с точечными заменами аминокислот, что может приводить к изменению функциональных свойств последнего и сказываться на количестве и составе метаболитов.

Целью настоящей работы стала оценка роли полиморфизма CYP1A1 человека в реакциях окислительного метаболизма тестостерона и прогестерона

Для этого были сконструированы бакуловирусные плазмиды, включающие ген дикого типа – CYP1A1*1(белок CYP1A1.1) и два его наиболее часто встречающихся мутированных варианта – CYP1A1*2 (белок CYP1A1.2; замена I462V) и CYP1A1*4(белок CYP1A1.4; замена T461N) и проведена экспрессия соответствующих белков в клетках линии насекомых *Spodoptera frugiperda*. Уровень экспрессии контролировали спектральными методами, а также путем регистрации каталитической активности в отношении этокси- и бензоксирезорифина. Об индивидуальности белковых препаратов судили по данным электрофореза.

Найдено, что в отношении прогестерона и тестостерона CYP1A1.1 и его полиморфные варианты – T461N и I462V обладали высокой, достоверно различающейся каталитической активностью. В случае прогестерона основным продуктом реакции

было 6 β -гидроксипроизводное стероида. Скорость гидроксилирования гормона по положению 16 α была приблизительно в два раза ниже. По своей каталитической активности в реакции 6 β -гидроксилирования прогестерона ферменты располагались в следующей последовательности: CYP1A1(T461N) > CYP1A1(I462V) > CYP1A1. В случае тестостерона единственным продуктом реакции было 6 β -гидроксипроизводное стероида, а скорости его образования были близки для CYP1A1 и CYP1A1(I462V), но значительно выше, чем для CYP1A1(T461N). В целом, полученные результаты указывают на существенную разницу в стерео- и региоселективности окисления прогестерона и тестостерона диким типом CYP1A1 и его природными мутантами, что в свою очередь свидетельствует в пользу функциональной значимости CYP1A1 полиморфизма.

Литература:

1. Nebert D.W., Ingelman-Sundberg M., Daly A.K. Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues // *Drug. Metab. Rev.* - 1999. - V. 31., - P. 467-487.

POLYMORPHISM OF MONOOXYGENASES AS A FACTOR OF INDIVIDUAL SENSIBILITY TOWARDS THE EFFECTS OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

¹Kisselev P.A., ¹Bovdey N.A., ²Goncharova L.V., ³Schunk W.-H., ⁴Schwarz D.

¹*Institute of Bioorganic Chemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus;*

²*Central Botanical Gardens of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus;*

³*Max Delbrueck Centrum for Molecular Medicine, Berlin, Germany;*

⁴*Institute of Clinical Pharmacology of Medical Centrum Charite, Humboldt University of Berlin, Germany*

Baculovirus plasmid, containing gene of wild type – CYP1A1*1 (CYP1A1.1 protein) and two of its most frequent mutated variants – CYP1A1*2 (CYP1A1.2 protein; I462V shift) and CYP1A1*4 (CYP1A1.4 protein; T461N shift) were constructed. Expression of the corresponding proteins was carried out. Appreciable difference in stereo- and regioselectivity of progesterone and testosterone oxidation by CYP1A1.1 and its natural mutants was revealed, testifying the functional significance of CYP1A1 polymorphism.

АКТИВНОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗ КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ АЛЮМИНИЕМ И ВВЕДЕНИИ ПАНТЕТИНА

Коваленчик И.Л.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь

Глутатионпероксидазы относятся к ферментам антиоксидантной защиты, широко

представленным в желудочно-кишечном тракте. В состав глутатионпероксидаз (ГПО) входит селен, определенное количество которого поступает в организм через кишечник и трансформируется в селеноцистеин, который является структурным компонентом изоферментов ГПО. С учетом большого количества пероксидных продуктов, поступающих с пищей, ГПО приобретают особое значение.

Для изучения активности глутатионпероксидаз используют разные подходы. При моделировании алюминиевого токсикоза возникает селеновая недостаточность и, как следствие, важнейшее значение приобретает изучение активности изоферментов глутатионпероксидаз кишечника в условиях возникновения окислительного стресса (ОС). Для выяснения возможности коррекции последнего использовали введение D-пантетина, являющегося предшественником кофермента А.

Целью настоящего исследования явилось моделирование ОС путем введения хлористого алюминия экспериментальным животным для выявления изменения активности антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидаз в слизистой оболочке различных отделов кишечника (12-перстная кишка, тонкая кишка, толстая кишка). D-пантетин был использован в связи с тем, что это соединение обладает способностью предупреждать развитие ОС и стимулирует двигательную активность тонкого кишечника.

Эксперимент выполнен на 24 белых крысах-самках линии Wistar массой 200–220 г, получавших сбалансированный рацион вивария и разделенных на три группы по 8 особей: I – контрольная, II – двукратное внутрибрюшинное введение 10% раствора $AlCl_3$ на 1 и 3 сутки в дозе 190 мг/кг в течение 14 суток, III – аналогичная интоксикация хлористым алюминием плюс трехкратное внутривентральное введение D-пантетина (Дайнич Сейяку Со) в дозе 270 мг/кг массы тела за 48, 24 и 6 часов до декапитации. В ходе эксперимента была отобрана слизистая оболочка различных отделов кишечника (12-перстная кишка, тонкая кишка, толстая кишка). Все ткани хранились в жидком азоте до последующей обработки.

В слизистой оболочке, отобранной из различных отделов кишечника (12-перстная кишка, тонкая кишка, толстая кишка), определяли активность глутатионпероксидаз (ГПО), используя в качестве субстратов H_2O_2 и t-BOOH [1,2]. Количество белка определяли по методу Лоури. Статистическая обработка результатов производилась с помощью программного обеспечения Microsoft Excel. Рассчитывались величины $M \pm m$, стандартное отклонение, достоверность в соответствии с критерием Фишера (при $p < 0,05$).

Полученные данные показывают, что активность H_2O_2 -метаболизирующей ГПО в слизистой 12-перстной кишки при алюминиевом токсикозе снижалась по сравнению с контролем, а при коррекции алюминиевой интоксикации пантетинном активность ГПО продолжала снижаться (данные достоверны по отношению к контролю). При использовании в качестве субстрата t-BOOH активность изофермента ГПО при алюминиевой интоксикации и коррекции ее пантетинном была примерно одинакова и существенно снижена по сравнению с контролем (данные достоверны по отношению к контролю).

Активность H_2O_2 -метаболизирующей ГПО в тонком кишечнике снижалась на фоне алюминиевой интоксикации, протекторное действие введения пантетина относительно снижения активности ГПО в тканях не проявилось (данные различия достоверны относительно контроля). Активность t-BOOH-метаболизирующей

ГПО в тонком отделе кишечника не изменялась при алюминиевой интоксикации и активировалась при введении пантетина.

В толстом отделе кишечника активность H_2O_2 -метаболизирующей ГПО и t-BOOH-метаболизирующей ГПО на фоне алюминиевой интоксикации существенно возрастала по сравнению с контролем (данные достоверны по отношению к контролю), а введение пантетина практически не модулировало активность как H_2O_2 -метаболизирующей ГПО, так и активность t-BOOH-метаболизирующей ГПО.

Таким образом, алюминиевая интоксикация существенно снизила активность ГПО в 12-перстной кишке и тонком кишечнике. Этот эффект не коррелировался введением пантетина. Активность ГПО в толстом кишечнике при алюминиевой интоксикации существенно возрастала, причем пантетин не модулировал активность H_2O_2 - и t-BOOH- метаболизирующей ГПО.

Можно полагать, что алюминиевый токсикоз является приемлемой моделью для воспроизведения нарушений ферментативного звена антиоксидантной защиты в слизистой оболочке тонкого кишечника.

Литература:

1. Кругликова, Г.О. Глутатионпероксидазна та глутатионредуктазна активність печінки щурів після введення селеніту натрію / Г.О. Кругликова, Ц.М. Штутман // Укр. біохім. журн. – 1976. – Т. 48. - № 2. – с. 223-228.

2. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лаб. дело. – 1986. - № 12. – 724-727.

ACTIVITIES OF ISOENZYMES OF INTESTINAL GLUTATHIONE PEROXIDASE IN ALUMINIUM INTOXICATION AND AFTER ADMINISTRATION OF PANTETHINE

Kovalenich I.L.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch, Grodno, Belarus

The experiments on albino Wistar rats were used to simulate oxidative stress (OS) by double administration of a 10 % solution of aluminium chloride at a dose of 190 mg/kg within 14 days. For correction of OS consequences, the intragastric administration of D-pantethine at a dose of 270 mg/kg for 48, 24 and 6 hours prior to decapitation was used.

Thus, aluminium toxicosis may be used to consider as acceptable model for reproduction of enzymatic disturbances in the antioxidant protection chain in the small intestinal mucosa.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ И БЕЛКОВО-ПОЛИСАХАРИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ ИЗ РАЗНЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ СНЫТИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*AEGOPODIUM PODAGRARIA L.*), ИХ НЕФРОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Койро О.О., Товчига О.В., Степанова С.И., Штрыголь С.Ю.
Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria L.*, снытка звичайная, яглиця звичайна) – многолетнее травянистое растение семейства сельдерейные (Apiaceae). Широко распространена в умеренной зоне Европы, в Сибири, горных районах Казахстана и Средней Азии, акклиматизирована в Северной Америке и Австралии. Часто образует сплошные заросли в дубовых, грабовых, буковых лесах, имеет достаточную сырьевую базу. Это известное пищевое, медоносное, кормовое растение. Сныть издавна используется в эмпирической медицине при заболеваниях почек и мочевого пузыря, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, артрите, ревматизме, нарушениях обмена веществ, а также как диуретическое средство. Латинское видовое название сныти обыкновенной свидетельствует о давней истории применения при подагре [1].

Цель настоящей работы – получение и предварительное исследование химического состава извлечений из различных видов сырья сныти обыкновенной, характеристика их влияния на выделительную функцию почек, в т.ч. на экскрецию мочевой кислоты.

Методы исследования: общепринятые методы фитохимического анализа, опыты на рандомбредных мышах в условиях водного диуреза. Объектами изучения стали листья, цветки, плоды и корневища сныти обыкновенной, заготовленные в Харьковской области в 2008 г.

Из всех органов растения получены сухие экстракты (экстрагент – вода) с выходом: листья – 20%, цветки – 23%, корневища – 21%, плоды – 18%. В экстрактах выявлены флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, полисахариды, свободные сахара, аминокислоты, органические кислоты. После очистки от липофильных веществ из сырья сныти получены белково-полисахаридные комплексы, выход которых составил для листьев – 5,0%, цветков – 5,2%; плодов – 1,0%, корневищ – 1,5%.

Экстракт цветков сныти проявляет умеренный дозозависимый мочегонный эффект при курсовом введении. Экстракт корневищ сныти дозозависимо увеличивает диурез и экскрецию мочевой кислоты при однократном и курсовом введении, действие максимально выражено на фоне первой дозы. Диуретические и урикозурические свойства присущи также экстракту плодов сныти обыкновенной.

Экстракт листьев сныти не оказывает существенного влияния на объем мочеотделения, проявляет тенденцию к увеличению экскреции мочевой кислоты и снижению экскреции креатинина. Ранее нами подтверждено благоприятное влияние данного препарата на выделительную функцию почек и азотистый обмен у интактных крыс, а также на обмен мочевой кислоты в условиях гиперурикемии, индуцированной калия оксонатом. На моделях поражения почек с различным патогенезом (этиленгликолевая, глицероловая, ишемическая острая почечная недостаточность, а также гентамициновая нефропатия) установлена нефропротекторная активность этого фитопрепарата: снижение летальности, восстановление парциальных функций почек, гипоазотемическое действие [2,3]. Экстракт цветков сныти, в отличие от

экстракта листьев, не проявляет нефропротекторного действия.

Белково-полисахаридный комплекс листьев сныти оказывает дозозависимое мочегонное действие, усиливает экскрецию мочевой кислоты при курсовом введении. Поэтому весьма вероятно, что БАВ этого комплекса участвуют в реализации фармакологической активности препаратов листьев сныти.

Таким образом, в эксперименте подтверждено нефротропное действие препаратов из различных видов сырья сныти обыкновенной. Различия в направленности и выраженности этого действия обусловлены биофармацевтическими факторами. Определение механизмов нефротропной и метаболической активности препаратов сныти станет предметом наших дальнейших исследований.

Литература:

1. Штрыголь С.Ю., Степанова С.И., Товчига О.В., Койро О.О. Сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria* L.) – перспективы применения в медицине // Провизор. – 2008. – №7. – С. 50-53.

2. Товчига О.В., Синица В.О., Штрыголь С.Ю., Чорна Н.С., Степанова С.И. Экстракт яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) зменшує нефротоксичність гентаміцину в щурів // Запорозький медичинський журнал. – 2008. – №2. – С. 36-40.

3. Товчига О.В., Штрыголь С.Ю., Степанова С.И. Вплив екстракту яглиці звичайної на перебіг нефротоксичної ниркової недостатності в експерименті // Експериментальна та клінічна медицина. – 2007. – № 1. – С. 33-37.

OBTAINING OF EXTRACTS AND PROTEIN-POLYSACCHARIDE COMPLEXES FROM DIFFERENT GOUT WEED (*AEGOPIDIUM PODAGRARIA* L.) PARTS AND THEIR RENAL EFFECTS

Koyro O.O., Tovchiga O.V., Stepanova S.I., Shtrygol' S.Ju.
National Pharmaceutical University, Kharkov, Ukraine

Dry extracts and protein-polysaccharide complexes from the all parts of gout weed have been obtained. Different groups of biologically active substances (cinnamic acids, flavonoids, polysaccharides, monosaccharides, amino acids, organic acids) have been revealed in these preparations. The diuretic and uricosuric properties of gout weed preparations have been verified in mice. It also has been shown that the extract from gout weed leaves exerts a nephroprotective action on the renal injury models with different pathogenesis. The results suggest good prospects for further investigation of gout weed preparations influence on the kidney function and uric acid metabolism.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НООПЕПТА НА РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ИНБРЕДНЫХ МЫШЕЙ C57Bl/6 ПРИ ИСТОЩАЮЩИХ НАГРУЗКАХ НА ТРЕДМИЛЛЕ

Кравченко Е.В., Ганжурова Н.В. Цубленок П.М.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Ноопепт (этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина, разработан в ГУНИИ Фармакологии им. В.В. Закусова РАМН Р.У. Островской и Т.А. Гудашевой) – современный препарат, обладающий полимодальным терапевтическим действием, характеризуется ноотропными, анксиолитическими, антиоксидантными, противовоспалительными, иммуномодулирующими свойствами, многокомпонентным нейропротективным влиянием. По данным П.Д. Шабанова и соавт. (2007), в исследованиях с участием здоровых добровольцев в климатической термобарокамере «Табай» (Япония) ноопепт обладает метеoadаптогенным действием. Авторы рекомендуют применение ноопепта как средства активации, поддержания и восстановления работоспособности в быстро меняющихся климатических условиях среды [1]. Вместе с тем, в доступной литературе отсутствуют данные об экспериментальном изучении влияния ноопепта на работоспособность. В связи с вышеизложенным, были проведены исследования влияния субхронического введения ноопепта на физическую работоспособность и выносливость мышцей-самцов C57Bl/6 в условиях краткосрочного тестирования на тредмилле (бег до отказа).

Интенсивная физическая нагрузка у животных достигалась посредством выполнения работы на тредмилле, сочетающейся с электростимуляцией (продолжительность электроболевого стимула – 200 мс, интервал между последовательными импульсами – 500 мс). Предварительно мышцей тренировали: до тестирования работоспособности проводили две тренировочные сессии, по одной сессии ежедневно. Во время каждой из них скорость движения беговой дорожки составляла 5 м/мин, продолжительность тренировки – 45 мин. В следующий день (до введения тестируемых образцов) и месяцем позже (после курсового введения образцов, на фоне их продолжающегося применения) на протяжении 5 дней проводили тестирование выносливости животных с использованием такого же электроболевого подкрепления. На протяжении первых 5 минут скорость беговой дорожки была 5 м/мин, затем каждую минуту увеличивали скорость на 1 м/мин, эксперимент продолжали до достижения критерия – нахождение в «стимулирующем боксе» на протяжении 20 секунд и более в условиях электростимуляции (бег до отказа). Определяли продолжительность бега до отказа для каждого животного.

Исследования проведены на 57 половозрелых мышцах-самцах C57Bl/6 (по 11–18 в группе). Всего в эксперимент включено 4 группы. В группу 1 включали животных, получавших ноопепт 20-кратно в дозе 0,3 мг/кг в режиме 5 дней в неделю, в группу 2 и 3 – ноопепт в дозах 0,5 мг/кг и 2,0 мг/кг в том же режиме, в группу 4 – особи, которым по той же схеме вводили растворитель (дистиллят).

Ноопепт в тестируемых дозах существенно не повышал работоспособность животных при беге на тредмилле. В 1-й день тестирования продолжительность бега до отказа в группах 1–4 составила $850,7 \pm 73,8$ с, $694,7 \pm 84,1$ с, $772,8 \pm 61,5$ с, $828,5 \pm 96,3$ с соответственно. Во 2-й день уровень регистрируемого показателя был найден равным в группах сравнения $1032 \pm 111,5$ с, $876,7 \pm 107$ с, $958,8 \pm 119,04$ с, $940,1 \pm$

117,6 с. В 3-й день соответствующие показатели были равны: 1301,1 ± 76,1 с, 839 ± 103,9 с, 1204,1 ± 85,1 с, 1158,1 ± 132,6 с. В 4-й день продолжительность бега до отказа в контроле составила 1101,1 ± 77,7 с, а при введении ноопепта в дозах 0,3 мг/кг, 0,5 мг/кг и 2,0 мг/кг – 788,5 ± 71,5 с, 1248,1 ± 87,2 с, 1238 ± 144 с. В последний день эксперимента величина названного критерия в группах 1–4 была равна 1209,3 ± 71,6 с, 919,3 ± 91,2 с, 1221,1 ± 79,6 с, 1125 ± 110,6 с.

В проведенных исследованиях не выявлено повышения работоспособности мышей C57Bl/6 под влиянием ноопепта (0,3–2,0 мг/кг). Вместе с тем, учитывая, что эффекты ноопепта во многом определяются фенотипом эмоционально-стрессовой реакции и слабо выражены у мышей C57Bl/6 со стабильным психоэмоциональным статусом [2, 3], целесообразно исследование влияния ноопепта на работоспособность животных других линий.

Литература:

1. Сравнительное изучение метеоадаптогенных свойств пептидных и непептидных препаратов у добровольцев / П.Д. Шабанов, В. П. Ганапольский, А. А. Елистратов // Мед. академ. журн. - 2007. — Том 7, N 2. — С. 42-48.
2. Бельник, А.П. Зависимые от генотипа особенности поведения мышей в когнитивных тестах. Влияние ноопепта / А.П. Бельник, Р.У. Островская, И.И. Полетаева // Журн. высш. нервн. деят. – 2007.- Т. 57, № 6. - С. 721-728.
3. Кравченко Е.В., Юрченко Е.В. Влияние ноопепта на поведение мышей разных линий в TST-тесте // Вестн. фармации - 2008. - № 4, т. 42. – С. 72-80.

INFLUENCE OF NOOPEPT ON WORK CAPACITY OF C57BL/6 INBRED MICE DURING EXHAUSTIVE WORK IN SHORT-TERM EXPERIMENT ON TREADMILL

Kravchenko E. V., Ganzurova N.V., Tsublenok P. M.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The effects of noopept on work capacity and endurance have been studied in inbred mice C57Bl/6 in short-term experiment on treadmill. Intensive physical work in animals achieved by work on treadmill combined with electrical stimulation. Noopept didn't increase the duration of running to the point of exhaustion.

ВЛИЯНИЕ ЗООСОЦИАЛЬНОГО ФАКТОРА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ОСТРОГО УГАШЕНИЯ ГОРИЗОНТАЛЬНОЙ И ВЕРТИКАЛЬНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ

Кравченко Е.В., Максимова Л.В., Хританкова И.В., Кокаровцев А.С., Навицкий В.В.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Угашение исследовательско-ориентировочной реакции («негативное обучение», габитуация) – одна из форм неассоциативного обучения. Феномен ослабления двигательной активности с течением времени в результате оценки окружающей обстановки как биологически незначимой исследуется при повторных или однократных высадках животных («острое угашение»), поодиночке или группами.

При групповой высадке животных в экспериментальную камеру выраженность угашения определяется по меньшей мере двумя факторами: привыканием к окружающей обстановке и привыканием к «партнерам» по группе. Известно, что зоосоциальный фактор играет существенную роль в феномене угашения горизонтальной двигательной активности (ГДА), преимущественно характеризующей локомоцию животных. Вместе с тем, угашение вертикальной двигательной активности (ВДА) наиболее полно отражает процессы привыкания. Влияние зоосоциальных отношений на габитуацию вертикализаций, отражающих ориентировочную реакцию в незнакомой обстановке, до настоящего времени не изучено.

Целью настоящей работы явился анализ роли зоосоциального фактора в процессах острого угашения ГДА и ВДА у мышей при высадке поодиночке, а также группами по 3, 7 и 10 животных.

Исследования проведены на 202 белых нелинейных мышках–самцах с массой тела 17-28 г. Оценку показателей угашения ГДА и ВДА осуществляли на протяжении 30 минут с помощью многоканального регистратора двигательной активности в условиях искусственного освещения. Животных помещали в камеры актометра размером 32 см x 22 см x 19 см с подстилкой, кормушкой, поилкой. В качестве основного критерия, характеризующего габитуацию, использовали коэффициент угашения, рассчитанный как отношение числа горизонтальных (вертикальных) движений за последние 5 минут к числу горизонтальных (вертикальных) движений за первые 5 минут регистрации. Установлены существенные различия в динамике острого угашения ГДА и ВДА при групповой актометрии: к концу сеанса регистрации подвижность животных в горизонтальной плоскости снижается более выражено, чем число вертикализаций (отличия достигают уровня достоверности в экспериментах с использованием групп по 7 и 10 особей).

Коэффициенты угашения ГДА в период с 25-ой по 30-ю минуты эксперимента при одиночной и групповой высадках мышей значимо не отличаются. Значения коэффициентов угашения ВДА в условиях зоосоциального взаимодействия достоверно выше, чем те же показатели у мышей при высадке в экспериментальную камеру поодиночке.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлена существенная роль зоосоциального фактора в процессах угашения вертикальной двигательной активности, и в меньшей степени – горизонтальной двигательной активности мышей.

Таблица 1

Влияние зоосоциального фактора на значения коэффициентов угашения горизонтальной и вертикальной двигательной активности

Число животных в группе	Значения коэффициентов угашения	
	Горизонтальная двигательная активность	Вертикальная двигательная активность
1 мышь, N=9	0,674±0,113	0,546±0,145
3 мыши, N=10	0,777±0,059	0,985±0,058, p ₂ =0,005
7 мышей, N=9	0,811±0,051	1,173±0,119, p ₁ =0,006, p ₂ =0,0002
10 мышей, N=10	0,741±0,046	1,045±0,082, p ₁ =0,015, p ₂ =0,002

Примечания - 1) p₁ – достоверность различий при сравнении коэффициентов угашения горизонтальной и вертикальной двигательной активности, ANOVA (двухфакторный дисперсионный анализ);

2) p₂ – достоверность различий при сравнении коэффициентов угашения при групповой высадке мышей и при высадке животных поодиночке, ANOVA (однофакторный дисперсионный анализ);

3) N – число экспериментов с одиночными или групповыми высадками.

EFFECT OF ZOOSOCIAL FACTOR ON THE EXPRESSION OF ACUTE EXTINCTION OF HORIZONTAL AND VERTICAL MOTOR ACTIVITY OF NONLINEAR MICE

Kravchenko E.V., Maksimova L.V., Khritankova I.V., Kokarovtsev A.S., Navitskij V.V.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

Significant differences were found in the dynamics of acute extinction of horizontal (HMA) and vertical (VMA) motor activity at the group actometry: at the end of registration, the locomotion in horizontal plane decreased more expressively than the vertical one. In the conditions of zoosocial interactions, the values of VMA extinction coefficients were verifiably higher than those of single mice.

НАРУШЕНИЯ ЦИРКАДНОГО РИТМА ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И РАЗВИТИЕ ДЕСИНХРОНОЗА У МЫШЕЙ ПОСЛЕ ДИАДНЫХ АГОНИСТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Известно, что одним из механизмов, обеспечивающих максимальную экономизацию ресурсов организма в приспособлении к постоянно меняющимся условиям внешней среды являются биологические ритмы, которые рассматриваются как способ и мера адаптации [2]. В современных условиях в спорте высших достижений, в т.ч. в тех

видах спорта, которые предполагают агрессивные взаимодействия (спортивные единоборства, хоккей и др.) [2] запредельные физические и психоэмоциональные нагрузки ведут к напряжению регуляторных механизмов, что проявляется изменениями структуры биологических ритмов [3]. Разработка средств коррекции названных нарушений осложняется отсутствием соответствующих моделей развития десинхроноза, вызванного агрессивными контактами.

Целью исследования являлась оценка влияния зоосоциального стресса на циркадный ритм двигательной активности (ЦР ДА) и возможное развитие десинхроноза у мышей.

Исследования проведены на 50 нелинейных белых мышках-самцах. Исследование состояло из 3-х стадий: 1-я (подготовительная) – отбор резидентов-доминантов с использованием «парадигмы колонии», 2-я – моделирование внутривидового агрессивного поведения в диадном тесте по общепринятой схеме «резидент – интродер», 3-я – оценка влияния зоосоциального стресса на ЦР ДА и возможное развитие десинхроноза. Формировали 3 экспериментальных группы: 1) группа 1 – животные, не подвергавшиеся стрессу агонистических взаимодействий (САВ) накануне актометрии, $n=20$; 2) группа 2 – мыши-интродеры, не преследуемые резидентом-доминантом в диадном тесте, $n=21$; 3) мыши-интродеры, выступавшие в агонистических взаимодействиях с резидентом-доминантом в роли «жертвы», $n=9$. В качестве базисных критериев, характеризующих моторику животных, использовали показатели «горизонтальная двигательная активность» (ГДА) и «вертикальная двигательная активность» (ВДА), оцениваемые с помощью многоканального регистратора двигательной активности. Высадку мышей в камеры актометров осуществляли в 13.00, запись биоритмов осуществляли на протяжении 24 часов при фиксированном световом режиме (12:12) с включением света в 7.00 и выключением в 19.00 при свободном доступе к воде и пище.

Показано, что САВ ведет к выраженному снижению ГДА и ВДА и к нарушению ЦР ДА у животных 2-ой и 3-ей экспериментальных групп (критерий Крускалла-Уоллиса, $p<0,05$). Так, максимумы ГДА и ВДА, отчетливо прослеживаемые у интактных мышей в 21.00-22.00 (8-й и 9-й часы от начала регистрации) и в 11.00-13.00 (22-й – 24-й часы регистрации), сглажены, причем у животных 2-й группы имеет место сдвиг максимума локомоции на 3 часа вправо (с 11-го по 12-й часы регистрации). Статистически значимые различия между 1-й и 2-й, а также 1-ой и 3-й экспериментальными группами имеют место в 1, 3, 4, 6, 8-10, 11 14, 22–24-й часы с момента высадки в актометр (критерий Крускалла-Уоллиса, $p<0,05$). Несмотря на то, что значимых отличий при непосредственном сопоставлении ГДА и ВДА у мышей 2-й и 3-й групп не выявлено, отмечаются отчетливые особенности изменений ЦР ДА особей названных групп относительно контроля. Так, поведенческая активность мышей 3-й группы существенно не отличается от таковой у интактных особей в 7, 11, 16, 21-й часы наблюдения (критерий Крускалла-Уоллиса, $p<0,05$), в то время как у животных 1-й и 2-й групп в эти сроки отмечаются значимые различия по критериям ГДА и/или ВДА. Таким образом, у животных-«жертв», переживших физическую агрессию, нарушения биоритмов выражены в меньшей степени, чем у мышей, не преследуемых доминантом, одна переживших психологический стресс в результате агонистических контактов.

Стресс агонистических взаимодействий ведет к выраженному снижению

двигательной активности и десинхронозу у особей, участвовавших в них. У животных-«жертв», переживших физическую агрессию, нарушения выражены в меньшей степени, чем у мышей, не преследуемых резидентом, однако переживших «психологический» стресс.

Литература:

1. Полатайко, Ю.А. Хронофармакологические особенности адаптивных реакций организма при занятиях циклическими видами спорта: автореф. дис. ...д-ра биол. наук / Ю.А. Полатайко. – 2005. - 38 с.

DISTURBANCES OF A CIRCADIAN RHYTHM OF A MOTOR PERFORMANCE AND DEVELOPMENT DESYNCHRONOSIS AT MICE AFTER DYADIC

AGONISTIC INTERACTIONS

Kravchenko E.V., Olgomets L.M.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The stress of agonistic interactions conducts to the expressed depression of a motor performance and abnormalities of circadian rhythm at the animals participating in agonistic interactions. At the animal - “victims”, gone through physical aggression, disturbances are expressed to a lesser degree, than at the mice which have not been pursued by the resident, however gone through “psychologic” stress.

ТЕРАПИЯ АРИТМИЙ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Лашковская Т.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Среди заболеваний сердечно-сосудистой системы нарушения сердечного ритма занимают особое место. Наряду с высокой распространенностью, достигающей по данным скрининговых исследований у детей школьного возраста 20-30%. диагностика сердечных аритмий вызывает значительные трудности [1].

Применение антиаритмических средств у детей и подростков - наиболее спорная проблема, что обусловлено разнообразием и выраженностью побочных эффектов большинства из них, окончательно неопределенным соотношением риска и пользы от их применения, а также реальной значимости «угрожающих нарушений ритма». В связи с высокой токсичностью этих препаратов назначать их рекомендуется только при высокой вероятности достижения положительного эффекта. Для потенцирования эффектов специфических антиаритмических препаратов у детей, а также для улучшения обменных процессов в миокарде и центральной нервной системе проводят длительную метаболическую (базисную) терапию. Она включает назначение препаратов кардиопротекторного и метаболического действия; регулирующих электролитный обмен в миокарде; ноотропного действия; витаминных препаратов и их

коферментов [2].

Цель исследования - анализ лечения экстрасистолии и пароксизмальной тахикардии у подростков.

Обследовано 62 подростка в возрасте от 10 до 18 лет. Всем детям проводились ЭКГ, холтеровское мониторирование ритма, определение variability сердечного ритма, ультразвуковое исследование сердца, полное клинико-лабораторное обследование.

У 48 (77,4%) подростков при проведении стандартной ЭКГ выявлена суправентрикулярная экстрасистолия, у 5 (8,1%) - желудочковая экстрасистолия, у 9 (14,5%) диагностирована суправентрикулярная пароксизмальная тахикардия

У 48,3% подростков при выполнении холтеровского мониторирования ЭКГ диагностированы сочетанные нарушения ритма. Наиболее часто (у 18 подростков – 29,0%) отмечалось сочетание суправентрикулярной и желудочковой экстрасистолии с миграцией водителя ритма и СА-блокадой II степени, преимущественно в ночное время.

Ведущей причиной аритмий у детей и подростков является вегетативная дисфункция (84%). органическая кардиальная патология диагностирована у 12% детей, у 4% детей причину нарушений ритма сердца выявить не удалось.

При анализе проводимого лечения у наблюдаемых нами детей с нарушениями ритма сердца установлено, что у 38 (61,0%) обследованных этиопатогенетическая терапия основного заболевания (вегетативная дисфункция, миокардит, миокардиодистрофия) дала положительный результат. У 11 (17,0%) подростков с частыми желудочковыми и/или суправентрикулярными экстрасистолами, пароксизмальной тахикардией в комплексную терапию были включены антиаритмические препараты: пропафенон - 7 мг/кг/сут. (4 человека), этацин - 2 мг/кг/сут. (4 человека), амиодарон - 5-10 мг/кг (3 подростка). Антиаритмическая терапия оказалась эффективной у 8 (72,7%).

Для потенцирования эффектов антиаритмических препаратов, а также для улучшения обменных процессов в миокарде и центральной нервной системе всем детям с частой экстрасистолией, пароксизмальной тахикардией проводилась длительная (3-6 месяцев) метаболическая (базисная) терапия, включающая назначение препаратов, улучшающих трофику миокарда (актовегин, милдронат, карнитина хлорид, калия оротат, магне В6, аспаркам) в сочетании с препаратами ноотропного действия (глицин, фенибут, пирацетам, аминалон, пантогам, пикамилон, глютаминовая кислота), витаминных препаратов в возрастных дозировках.

При повторном холтеровском мониторировании ЭКГ, проведенном 24 подросткам с частой экстрасистолией, пароксизмальной тахикардией после длительной базисной терапии отмечалось уменьшение частоты экстрасистолии в 1.7 раза.

Заключение.

1. Этиопатогенетическое лечение основного заболевания (вегетативная дисфункция, миокардит, миокардиодистрофия) в 61% случаев при нарушениях ритма сердца дает положительный результат.

2. У 17% подростков с частыми желудочковыми и/или суправентрикулярными экстрасистолами, пароксизмальной тахикардией требуется назначение антиаритмических препаратов.

3. Для потенцирования эффектов антиаритмических препаратов, а также для улучшения обменных процессов в миокарде и центральной нервной системе детям с нарушениями ритма сердца должна проводиться длительная (3-6 месяцев) метаболическая терапия.

Литература:

1. Мутафьян. О.А. Аритмии сердца у детей и подростков (клиника, диагностика и течение) / О.А. Мутафьян. - Санкт-Петербург: Невский диалект. 2003. - 224с.
2. Школьников, М.А. Диагностика и лечение жизнеугрожающих нарушений сердечного ритма в детском возрасте. / М.А. Школьников. - Москва. 2001. - 84с.

THERAPY ARRHYTHMIAS IN CHILDREN AND TEENAGERS

Lashkovskaja T.A.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

There is analysis of arrhythmias treatment in children and teenagers who receive antiarrhythmic drugs, prolonged (basis) cardiometabolic therapy in combination with nootropics. Effectiveness of basic therapy in treatment of frequent extrasystoly and paroxysmal tachycardia in children and teenagers is shown.

МОРФИНОВАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ И ОБМЕН ГАМК В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Лелевич В.В., Виницкая А.Г., Лелевич С.В., Курбат М.Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Ведущую роль в формировании основных симптомов опиийной наркомании играют нарушения нейромедиаторных систем ЦНС, опосредуемые изменениями со стороны опиатных рецепторов. Данные биохимических и фармакологических исследований свидетельствуют о вовлечении системы γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) в реализацию ряда эффектов морфина, формирование толерантности и зависимости от наркотика [1]. Известно, что около 17 % всей активности ЦТК в целом мозге приходится на обходный путь превращения α -кетоглутарата в сукцинат через переаминирование ГАМК, и интенсивность обмена ГАМК (ГАМК-шунта) различается в структурах мозга в зависимости от концентрации в них ГАМК-ергических путей и функционального состояния организма [2]. По современным представлениям, анаплеротический ГАМК-шунт находится в тесной связи не только с реакциями цикла трикарбоновых кислот, но и обменом ряда нейроактивных аминокислот, и может использоваться нервной тканью для восполнения дефицита энергетических субстратов при некоторых экстремальных воздействиях [2].

Целью данного исследования явилось изучение воздействия острой и хронической морфиновой интоксикации на активность ферментов катаболизма ГАМК, содержание ГАМК и ее предшественников в коре больших полушарий мозга крыс.

Эксперименты были выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. При моделировании острой морфиновой интоксикации 1% раствор морфина гидрохлорида вводили однократно внутривенно в дозах 10, 20 и 40 мг/кг массы тела. При моделировании хронической морфиновой интоксикации (ХМИ) назначение морфина проводили дважды в сутки по следующей схеме: 1–2-й день – по 10 мг/кг/сутки, 3–4-й день – по 20 мг/кг/сутки. Начиная с 5-го дня и до конца эксперимента суточная доза морфина была увеличена до 40 мг/кг массы тела. Сроки ХМИ составили 7 суток, 14 суток и 21 день. В обеих моделях контрольным животным вводили эквивалентные количества 0,9% раствора хлорида натрия однократно или на протяжении всего эксперимента. Декапитацию крыс проводили через 1 час после последней инъекции морфина и физиологического раствора, извлекали головной мозг, быстро выделяли кору больших полушарий и немедленно замораживали в жидком азоте. В гомогенатах коры больших полушарий определяли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ), ГАМК-аминотрансферазы (ГАМК-Т) и дегидрогеназы янтарного альдегида (ЯПА-ДГ). Белок определяли по Лоури. Содержание нейрональных аминокислот (ГАМК, глутамат, глутамин) в хлорных экстрактах структур мозга определяли посредством катионообменной хроматографии одноколоночным методом на автоматическом анализаторе аминокислот Т-339М модифицированному методу Benson, Peterson. Достоверность различий между группами оценивали параметрическим методом с применением t критерия Стьюдента.

Введение морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг оказало на животных легкое возбуждающее действие. При этом в коре больших полушарий наблюдали значительный прирост уровня глутамата (на 155%) и его предшественника глутамина (на 36%), что, по-видимому, и объясняло возбуждающее действие этой дозы морфина. Снижение концентрации ГАМК в этом отделе мозга не сопровождалось изменением активности ферментов ее катаболизма, а только угнетением СДГ на 16,7%. При введении крысам морфина в дозах 20 и 40 мг/кг наблюдали снижение двигательной активности, наиболее выраженное при введении максимальной дозы препарата. В коре больших полушарий животных, получивших однократные инъекции наркотика в дозе 20 мг/кг, было отмечено снижение активности ГАМК-Т и СДГ (на 24,3% и 13,7%, соответственно). Содержание изученных аминокислот не изменилось достоверно в этом отделе мозга, за исключением сохранения тенденции к повышению уровней глутамата и глутамина. Введение морфина в дозе 40 мг/кг вызвало в коре больших полушарий достоверное снижение активности СДГ на 15,3%, при отсутствии достоверных сдвигов в содержании аминокислот.

Согласно данным литературы, внутривенное введение крысам морфина в течение 7–14 суток приводит к формированию у них физической зависимости от наркотика, и его отмена сопровождается появлением симптомов абстинентного синдрома [3]. На 7-е сутки ХМИ в коре больших полушарий было отмечено значительное (на 74,7%) уменьшение концентрации глутамата без достоверных сдвигов других исследуемых показателей. Поскольку в корковых структурах большинство энергии, производимой при окислении глюкозы, используется для функционирования глутаматергических нейронов [2], значительное уменьшение уровня глутамата может свидетельствовать о низкой активности глутаматергических нейронов в этом отделе мозга на фоне длительной морфиновой интоксикации. Увеличение срока введения

морфина до 14 суток привело к повышению в коре больших полушарий содержания ГАМК на 38,5% при сохранении снижения содержания глутамата на 74,3%, что может свидетельствовать об активном синтезе ГАМК из глутамата в нервных окончаниях. При этом не изменились активности изученных ферментов ГАМК-шунта и СДГ. При увеличении срока морфинизации животных до 21 суток значительно повысилась агрессия и прыжковая активность животных. В отделах мозга крыс этой группы были отмечены наиболее выраженные сдвиги в изученных показателях по сравнению с группами крыс, получавшими морфин более короткое время. В коре больших полушарий наблюдали активацию ГАМК-Т на 30,2% и снижение активности ЯПА-ДГ на 27,3%. Концентрация глутамата в этом отделе мозга также была значительно ниже контроля на фоне тенденции к увеличению уровня ГАМК.

Таким образом, поступление морфина в организм животных привело к достоверным изменениям исследуемых показателей обмена ГАМК, которые зависели от вводимой дозы препарата и длительности токсического воздействия. Отмеченные метаболические сдвиги, вероятно, носят характер опосредованной адаптации нейронов корковых структур к воздействию наркотика.

Литература:

1. Lungford-Hughes, A. Neurobiology of addiction and implications for treatment / A. Lungford-Hughes, D. Nutt // Brit. J. Psychiatry. - 2003. - Vol. 182. - P. 97-100.
2. Sonnewald, U. Metabolic compartmentation in cortical synaptosomes: influence of glucose and preferential incorporation of endogenous glutamate in to GABA / U. Sonnewald, M. McKenna // Neurochem. Res. - 2002. - Vol. 27, № 1-2. - P. 43-50.
3. Оценка индивидуальной чувствительности крыс линии Вистар к формированию зависимости от морфина / М.А. Константинопольский [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 1992. - Т. 55, № 2. - С. 9-11.

MORPHINE INTOXICATION AND GABA METABOLISM IN RAT CORTEX

Lelevich V.V., Vinitskaya A.G., Lelevich S.V., Kurbat M.N.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

The activities of GABA-catabolizing enzymes (GABA-transaminase and succinic semialdehyde dehydrogenase (SSA-DH)), succinate dehydrogenase (SDH), and the contents of GABA, glutamate, and glutamine were assayed in the rat brain cortices after single and protracted morphine administration. In the acute experiment, 1% morphine hydrochloride was injected singly, intraperitoneally (i.p.) to rats in the doses of 10, 20 and 40 mg/kg of body weight. In chronic morphine intoxication (ChMI), morphine was injected i.p., twice, daily to rats following 7, 14 and 21 days in the steadily enhancing doses of 10, 20 and 40 mg/kg.

The i.p. administration of the single dose of morphine (10 mg/kg) led to enhancement of the glutamate and glutamine levels and diminishing of the GABA level in the cortex, which may cause an excitable effect of morphine. When the higher doses of morphine were administered (20 and 40 mg/kg, i.p.), inhibition of GABA-T and SDH activities was observed in cortex without significant changes in amino acids levels. The 7-day ChMI resulted in a significant decrease in the glutamate level. The 14-day ChMI led to reliable

increase in GABA level followed by diminishing of glutamate level. The 21- day ChMI showed a rise of animal aggression. In the cortex, the activation of GABA-T was followed by a decrease in the SSA-DH activity and glutamate level.

Therefore the acute and prolonged morphine administration causes the dose and time-dependent changes in functioning of GABA shunt and TCA cycle in rat cortex. The changes observed are likely to occur due to the adaptation of neurons to morphine administration.

НОВЫЕ МЕТОДЫ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ В НАРКОЛОГИИ

Лелевич В.В., Лелевич С.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

В лечении и реабилитации больных алкоголизмом все большее распространение получает применение биологически активных соединений – естественных метаболитов организма человека. Их введение позволяет, с одной стороны, ликвидировать эндогенный дефицит незаменимых нутриентов, а с другой – получить фармакотерапевтический эффект после поступления подобных соединений (или их композиций) в организм.

Исследования показали, что патогенетически обоснованным является включение в комплекс лечебно-реабилитационных мероприятий при алкогольной интоксикации препарата аминокислот и их производных.

Для сокращения сроков купирования и уменьшения вероятности развития побочных эффектов и осложнений алкогольного абстинентного синдрома изучен в эксперименте и успешно применен в наркологической практике препарат Полиамин, содержащий 13 свободных аминокислот, подобранных в оптимальных для внутривенного введения концентрациях [1]. Рекомендуется после клинического обследования и уточнения диагноза больных алкоголизмом 2-3 стадии с проявлениями алкогольного абстинентного синдрома (средне-тяжелая степень) вводить однократно Полиамин в дозе 200–400 мл со скоростью 25 капель/мин (введение каждых 100 мл «Полиамина» требует не менее 1 ч.). Следует заметить, что снижение дозы Полиамина ниже 200 мл не обеспечивает получение необходимого результата, а ее увеличение свыше 400 мл не ведет к увеличению эффективности по сравнению с рекомендуемыми дозами.

Проведенное в эксперименте на животных изучение биохимических параметров плазмы крови и тканей животных с хронической алкогольной интоксикацией после однократной инфузии Полиамина показало, что препарат вызывает быстрое торможение процессов перекисного окисления липидов, повышает активность компонентов аминокислотной защиты тканей. Парентеральное введение стабилизированной смеси аминокислот после резкого увеличения содержания свободных аминокислот в крови и тканях интенсифицирует их утилизацию в организме, в значительной степени нормализуя аминокислотный дисбаланс. У животных с хронической алкогольной интоксикацией после введения Полиамина уже через час исчезли признаки гипервозбудимости (обусловленные отменой алкоголя) и нормализовалось поведение как результат сдвигов в содержании нейроактивных

аминокислот и активности ферментов метаболизма ГАМК. Аналогичное Полиамину действие оказывает препарат Левамин, также являющийся сбалансированной смесью свободных аминокислот и их производных. Менее физиологически полноценные по составу аминокислотные препараты (например Альвезин), содержание небольшой набор аминокислот либо их D-дериваты, оказывают более слабый терапевтический эффект.

Предложена и клинически апробирована схема коррекции патогенетических нарушений, обусловленная сочетанной недостаточностью водорастворимых витаминов. Предложено для нормализации метаболических нарушений использовать комплекс витаминов, оказывающих наиболее выраженное воздействие на белково-аминокислотный обмен. В состав апробированного нами комплекса входят тиаминхлорид (200 мг), пантотенат кальция (400 мг), рибофлавин (30 мг), пиридоксина гидрохлорид (100 мг). Этот комплекс рекомендуется назначить ежедневно в составе кефира в течение 2 недель после ликвидации острых проявлений алкогольного абстинентного синдрома и на фоне применения обычного комплекса дезинтоксикационной терапии. Использование витаминного комплекса ведет к быстрой нормализации ферментов обмена аминокислот (АЛТ, АСТ, ГГТП) в плазме крови. Спектр свободных аминокислот в плазме крови у больных, получавших витаминный комплекс, достаточно быстро нормализуется. Эффекты назначения данного витаминного комплекса реализуются не только через витаминзависимые реакции, но и путем неспецифического воздействия на функциональную активность желез внутренней секреции и иммунитет. Кроме того, использование данного витаминного комплекса позволяет нормализовать функцию печени в случае отсутствия грубых морфологических изменений (цирроз).

Следует указать, что одним из компонентов данного витаминного комплекса является пантотенат кальция, достаточно хорошо изученное производное пантотеновой кислоты. Препараты пантотената рекомендуются для проведения дезинтоксикационной терапии и нормализации функций печени в случае алкогольного гепатоза [2].

Доказано, что некоторые симптомы наркомании связаны с метаболическими нарушениями фонда аминокислот в ЦНС, нейротоксическим действием возбуждающих аминокислот и гипоактивностью тормозящих [3]. Следовательно, целесообразно применять для метаболической коррекции блокаторы возбуждающих аминокислот (магний-пиридоксин, ламиктал), препараты, повышающих уровень тормозящих аминокислот путем блокады фермента, инактивирующего ГАМК (вальпроат натрия), отдельные аминокислоты либо их композиции. Использование препаратов на основе аминокислот основано на том, что некоторые из них способны активно изменять метаболизм в организме. Так, к примеру, таурин – продукт метаболизма серосодержащих аминокислот способен активировать дофаминовую и серотониновую систему ЦНС, процессы транспорта незаменимых аминокислот ткани, реакции гликолиза и лимитирующие стадии лимонного цикла, оказывать антиоксидантное и мембранстабилизирующее действие. Группа аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (лейцин, изолейцин, валин) активирует синтез ДНК и белка, транспорт мРНК, ингибирования протеолиза. Получены данные о нормализации различных видов метаболизма (углеводного, липидного, обмена нейромедиаторов, иммунного статуса) экспериментальных животных, находящихся в

состоянии хронической наркотической интоксикации или абстинентного синдрома, на фоне введения аминокислотной смеси Тавамин (состав: таурин, изолейцин, лейцин, валин). В настоящее время ведутся исследования, обосновывающие применения в различных сочетаниях глутамин, триптофана и других аминокислот в качестве средств, уменьшающих токсическое действие наркотических веществ.

Литература:

1. Козловский А.В., Лелевич В.В., Виницкая А.Г. Аминокислоты и их производные в коррекции метаболических нарушений при наркологических заболеваниях. // Мед. новости. – 2004. - № 7. – С. 27-33.

2. Лелевич В.В., Селевич М.И., Шейбак В.М. Метаболическая терапия алкоголизма и его последствия. - Клинико-лабораторные аспекты метаболической терапии. – Витебск, 1999. – С. 217-220.

3. Лелевич В.В., Курбат М.Н. Обмен свободных аминокислот головного мозга при морфиновой наркомании. – Гродно, 2007. – 152с.

NEW APPROACHES TO METABOLIC CORRECTION IN NARCOLOGY

Lelevich V.V., Lelevich S.V.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

New approaches to metabolic correction of alcohol and drug addiction were discussed in the article. Good results in the application of the amino acid mixture “Poliamine” and multivitamin complex were shown in the treatment of patients with the alcohol withdrawal syndrome. Several medicines and biologically active compounds targeting morphine addiction were considered.

ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ДАПСОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ КРАСНОЙ КРОВИ

Лужнова С.А.

Научно-исследовательский институт по изучению лепры Росздрава, Астрахань, Россия

Дапсон является не только основным препаратом при терапии лепры, но и используется в лечении ряда других заболеваний, таких как малярия, дерматит Дюринга, кожный лейшманиоз и др. Применяется для предупреждения и лечения пневмоцистоза и токсоплазмоза у ВИЧ-позитивных больных. Эффективное клиническое использование дапсона ограничено из-за его неблагоприятных гемолитических реакций.

Целью работы явилось изучение особенностей влияния дапсона на показатели красной крови у особей разного пола в эксперименте.

Исследование проведено в осенний сезон (октябрь–ноябрь) на 40 половозрелых (возраст 8–9 мес.) нелинейных белых крысах обоего пола. Все животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и были

синхронизированы по весу и питанию. Животные подопытных групп один раз в сутки *per os* в течение 21 дня получали дапсон фирмы Novartis в дозе 25 мг/кг, контрольные – дистиллированную воду. На 22-й день от начала эксперимента крыс усыпляли хлороформом, забирали кровь. Определяли унифицированными методами уровень гемоглобина, количество эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците, цветной показатель. Работу с животными осуществляли согласно приказу № 755 Минздрава СССР и Международным правилам GLP. Полученные данные обрабатывали статистически с применением *t*-критерия Стьюдента.

Курсовое введение дапсона привело у самцов к статистически достоверному снижению гемоглобина ($p < 0,01$) и количества эритроцитов ($p < 0,001$) в то время, как у самок количество эритроцитов и уровень гемоглобина оставалось практически равными показателям в контрольной группе. Незначительные изменения в показателях у самок не являлись статистически достоверными. Среднее содержание гемоглобина в эритроците у самцов статистически достоверно возрастало ($p < 0,01$) за счет существенного снижения числа эритроцитов, у самок – либо незначительно увеличивалось, либо оставалось равным контрольному. Цветной показатель у самок был сопоставим с контрольным, у самцов значительно возрастал ($p < 0,01$).

Результаты проведенного исследования показали, что воздействие дапсона на показатели красной крови у особей разного пола не однозначно. У самок при многократном введении дапсона не наблюдается признаков токсического воздействия препарата на исследованные показатели крови, в то время как у самцов выявлены признаки, характерные для анемии, что необходимо учитывать с целью совершенствования терапии дапсоном лиц разного пола.

SEX ASSOCIATED DIFFERENCES OF DAPSONE INFLUENCE ON THE RED BLOOD INDICES

Luzhnova S.A.

Leprosy Research Institute, Astrakhan, Russia

The influence of dapsone course administration on the red blood indices of rats was studied. In male rats, the signs of anaemia were revealed. In female rats, the toxic effect was not found. It is necessary to consider these differences for improvement the dapsone therapy.

ВЛИЯНИЕ ПАНТЕТИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОГО БАЛАНСА БЕЛКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Лукиенко Е.П.

*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь*

В механизмах нейродегенеративных изменений в центральной нервной системе важное место принадлежит развитию окислительного стресса (ОС). Одним из

патогенетических факторов повреждения нейронов является нарушение процесса биосинтеза кофермента А (CoA) [1], участвующего в образовании ацетилхолина и липидных компонентов нейромембраны. Вследствие того, что предшественники CoA – производные пантотеновой кислоты являются одновременно и эффективными модуляторами системы глутатиона, есть основание полагать, что они способны воздействовать на прооксидантный-антиоксидантный баланс в нейроструктурах. Предполагается, что система CoA является стабилизатором редокс-статуса и участником редокс-сигналирования в нейронах [2], и что это действие реализуется не только через редокс-статус глутатиона и других низкомолекулярных серосодержащих соединений, но и через тиол-дисульфидные взаимодействия белков ЦНС. В более ранних исследованиях показано, что поражение нейроструктур сопровождается также и изменениями тиол-дисульфидного баланса как низкомолекулярных тиолов, так и макромолекул [3].

Целью данного исследования явилось изучение изменений показателей редокс-статуса белков в структурах головного мозга крыс при введении пантетина как предшественника CoA и соединения с выраженной антиоксидантной активностью на фоне моделирования ОС (алюминиевый нейротоксикоз).

Эксперименты выполнены на 24 белых крысах-самках линии Wistar массой 200–220 г, получавших сбалансированный рацион вивария и разделенных на 3 группы по 8 особей: I – контрольная, II – двукратное внутрибрюшинное введение 10% раствора AlCl₃ на 1 и 3 сутки в дозе 190 мг/кг за период 14 суток, III – аналогичная интоксикация AlCl₃ + трехкратное внутривентрикулярное введение D-пантетина в дозе 270 мкг/кг массы тела за 48, 24 и 6 ч до декапитации. В образцах больших полушарий, мозжечка и ствола мозга крыс исследовано содержание небелковых, белковых и общих сульфгидрильных и дисульфидных групп (по методу Северина и Веревкиной). Белок определяли по методу Лоури.

При моделировании алюминиевого токсикоза во всех исследованных нейроструктурах наблюдается достоверное снижение изучаемых показателей. Содержание небелковых SH-групп (нмоль/мг белка) снизилось в мозжечке на 55%, в больших полушариях – на 34%, в стволе мозга – на 26%. Содержание белковых тиоловых групп в исследованных тканях составило 73–83% по сравнению с контролем. На фоне указанных эффектов отмечено снижение общих SH-групп на 21–36%. Содержание дисульфидных групп в белках оказалось достоверно ниже контрольных значений на 34–48%.

Введение пантетина на фоне алюминиевой интоксикации привело к значительному нивелированию указанных изменений. Эффект воздействия препарата на систему редокс-статуса белков тканей головного мозга в условиях ОС зарегистрирован во всех изученных нейроструктурах. Наблюдалось достоверное увеличение уровня небелковых, белковых и общих SH-групп, который восстанавливается до близкого к нормальному уровню. Восстанавливающий эффект введения пантетина особенно выражен в тканях мозжечка. В образцах ствола мозга и больших полушарий также наблюдается восстановление уровня вышеперечисленных SH-групп до близкого к нормальному уровню. В то же время введение пантетина на фоне иницированного ОС не сопровождалось изменениями содержания дисульфидных групп в белках во всех исследованных структурах мозга.

Отношение тиол-дисульфидных групп (-SH/-SS-) белков в гомогенате больших

полушарий головного мозга падает при ОС и нормализуется при введении предшественника биосинтеза CoA. В стволе мозга и мозжечке коррегирующего действия пантетина на соотношение SH/SS групп не выявлено.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности вмешательства пантетина в условиях окислительного стресса в регуляцию редокс-состояния небелкового и белкового тиол-дисульфидного равновесия в структурах мозга и, тем самым, обосновывают возможность его использования в коррекции нейродегенеративных поражений тканей мозга.

Литература:

1. Дубинина Е. Е. Роль окислительного стресса при патологических состояниях нервной системы // Успехи функциональной нейрхимии / Под ред. С. А. Дамбиновой и А. В. Арутюняна. – СПб., 2003. – С. 285–301.
2. Leonardi R., Zhang Y-M., Rock C. O., Jackowski S. Coenzyme A: back in action. // Progress in lipid research. – 2005. – Vol. 44. – P. 125-153.
3. Евкович И.Н. Воздействие препарата «фосфопан» на тиол-дисульфидный статус тканей при эндогенной и алюминиевой интоксикации // В сб. Здоровье и окружающая среда. – 2007. – Вып. 10. – С. 767-772.

EFFECT OF PANTETHINE ON PARAMETERS OF THIOL-DISULFIDE BALANCE OF O BRAIN PROTEINS AT OXIDATIVE STRESS

Lykienko E.P.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch, Grodno, Belarus

A significant decrease of redox-status parameters was observed in all the brain neurostructures investigated (large hemispheres, cerebellum, brain stem) in simulation of aluminium neurotoxicosis. The pantethine administration caused regeneration of levels of non-protein, protein and total SH-groups in all tissues, particularly in cerebellum samples. A corrective effect of pantethine was noted on a ratio of protein thiol-disulfide of (-SH/-SS-) groups in large hemisphere homogenates. The data obtained indicate a possible pantethine intervention in regulation of a redox-state protein and non-protein thiol-disulfide balance in the brain structures under oxidation stress.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКИХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОТИОЛА И ТРИАЗИНИНДОЛА

Лукк М.В., Зарубина И.В., Шабанов П.Д.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Гипоксия и ишемия составляют основу патогенетических механизмов многих острых и хронических заболеваний. Особенно это характерно для патологии сердца и сосудов, являющейся одной из главных причин потери трудоспособности и смертности населения. Кроме того, гипоксические и ишемические нарушения

становятся ведущими при ряде неотложных состояний. Поэтому разработка средств, предупреждающих или устраняющих проявления гипоксии и ишемии, – антигипоксантов – продолжает оставаться важнейшей задачей современной фармакологии [1, 2]. Целью работы явилась оценка антигипоксического действия производных аминотиола и триазиноиндола и их способности изменять активность ферментов перекисного окисления липидов и антиоксидантных систем.

Опыты выполнены на 152 белых крысах-самцах Вистар массой 160–180 г. Острую гипоксическую гипоксию создавали путем «подъема» крыс в барокамере со скоростью 50 м/с на «высоту» 11 000 м с последующим 30минутным пребыванием животных на данной «высоте» при определении выживаемости или путем подъема на «высоту» 8 000 м с пребыванием на ней в течение 30 мин при оценке биохимических показателей на фоне гипоксии. По показателям выживаемости рассчитывался коэффициент защиты (КЗ). Величина КЗ колеблется в пределах от 0,5 до 2,0, причем значение $K3 = 1,0$ соответствует отсутствию различий между опытом и контролем. Для биохимических исследований крыс забивали после спуска с «высоты» 8 000 м со скоростью 50 м/с путем погружения в жидкий азот с последующим выделением головного мозга, печени, почек, скелетных мышц бедра и сердца. Все препараты вводили внутривенно за 30 мин до подъема на «высоту» в оптимальных дозах, установленных опытным путем: амтизол, гутимин, сукцинат и препарат Т475 в дозе 25 мг/кг, а сочетание амтизола или гутимина с сукцинатом в дозе 50 мг/кг. Контрольные группы получали эквивалентное по объему количество растворителя (физиологического раствора хлорида натрия). Выбор доз проводился на основе литературных данных с последующим уточнением в предварительных опытах. Об активности процессов свободнорадикального окисления судили по накоплению в исследуемых органах первичных (гидроперекисей липидов) и вторичных (малонового диальдегида) продуктов перекисного окисления липидов. Функции антиоксидантных систем оценивали по активности каталазы, супероксиддисмутазы и содержанию восстановленного глутатиона. О состоянии энергетических процессов в исследуемых органах судили по концентрации АТФ, которую определяли на сканирующем устройстве флуоресцентного спектрофотометра в отраженном свете при длине волны 260 нм после предварительного хроматографического разделения адениннуклеотидов на силуфолу и выделении фракции АТФ [3].

Все изученные соединения обладают антигипоксической активностью при гипоксической гипоксии, образуя убывающий ряд в следующем порядке: амтизола сукцинат \approx амтизол \approx гутимин $>$ Т475 $>$ гутимина сукцинат $>$ сукцинат. В многокомпонентной структуре ответа организма на действие гипоксической гипоксии имеет место активация перекисного окисления липидов и угнетение системы антиоксидантной защиты в головном мозге, почках, печени, миокарде и скелетной мускулатуре, что выражается увеличением содержания малонового диальдегида и гидроперекисей липидов, падением активности супероксиддисмутазы и содержания восстановленного глутатиона. При этом эталонный антигипоксант амтизол устраняет во всех изученных органах негативные сдвиги, вызванные тяжелой гипоксией в системах перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Антигипоксические и антиоксидантные свойства амтизола не потенцируются его соединением с янтарной кислотой. Гутимин тормозит активацию перекисного окисления липидов, препятствуя накоплению малонового диальдегида и гидроперекисей липидов, а также падению

уровня восстановленного глутатиона во всех изученных органах в условиях гипоксии. Данные эффекты гутимина сопровождаются угнетением супероксиддисмутазы и каталазы. Соединение гутимина с янтарной кислотой потенцирует его тормозное действие на перекисное окисление липидов и устраняет его угнетающее действие на активность супероксиддисмутазы во всех органах. Антигипоксант Т-475 устраняет во всех изученных органах негативные сдвиги, вызванные тяжелой гипоксией в системах перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, кроме накопления малонового диальдегида в печени и угнетения супероксиддисмутазы в головном мозге. Таким образом, отмечен определенный параллелизм в проявлении антигипоксического и антиоксидантного действия исследованных веществ.

Все исследованные соединения аминотиоловой и триазиноиндольной структуры оказывают антигипоксическое действие в модели гипоксической (высотной) гипоксии. По выраженности антигипоксической активности они могут быть расположены в следующий ряд (в порядке убывания активности): амтизола сукцинат \approx амтизол \approx гутимин $>$ Т475 $>$ гутимина сукцинат $>$ сукцинат. При гипоксической гипоксии антиоксидантные свойства антигипоксантов в целом включают два компонента: торможение активации перекисного окисления липидов и предотвращение угнетения антиоксидантных систем. По способности подавлять перекисное окисление липидов все препараты можно расположить в убывающий ряд в следующей последовательности: сукцинат $>$ гутимина сукцинат $>$ амтизол \geq амтизола сукцинат \approx Т-475 \approx гутимин, по активации факторов антиоксидантной защиты – в другой ряд (в порядке убывания активности): амтизол \geq амтизола сукцинат $>$ сукцинат \approx Т-475 $>$ гутимина сукцинат.

Литература:

1. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов. СПб.: Изд-во Н-Л, 2004. 368 с.
2. Новиков В.Е., Понамарева Н.И., Шабанов П.Д. Аминотиоловые антигипоксанты при травматическом отеке мозга. Смоленск-СПб.: Элби-СПб, 2008. 176 с.
3. Лукк М.В., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Антиоксидантные свойства аминотиоловых и триазиноиндоловых антигипоксантов // Психофармакол. и биол. наркол. 2008. Т.8. №1-2. С.2255-2263.

STUDY OF ANTIHYPOXIC AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF AMINO-THIOL AND TRIAZINOINDOL DERIVATIVES

Lukk M.V., Zarubina I.V., Shabanov P.D.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

The antihypoxic activity of 6 aminothiols and triazinoindol derivatives was studied in a model of hypobaric (hypoxic) hypoxia in rats. The range of antihypoxic activity was the following: amthizol succinate \approx amthizol \approx gutimin $>$ Т475 $>$ gutimin succinate $>$ succinate. One of the mechanisms of action for all antihypoxants was the inhibition of lipid peroxidation and recovery of hypoxia-induced antioxidant defense system in the brain, kidneys, liver, heart and muscles (the reduction of the contents of malonic dialdehyde and lipid hydroperoxides, the increase of superoxide dismutase activity and the contents of reduced glutation). Amthizol showed the most pronounced antihypoxic activity. It re-

covered all negative shifts produced by medium and severe hypoxia in the organs studied. Succinate did not potentiate antihypoxic and antioxidant properties of amthizol. Gutimin inhibited the activation of lipid peroxidation preventing the increase of malonic dialdehyde and lipid hydroperoxides and the decrease of recovered glutathione produced by hypoxia in all the organs studied. Besides, gutimin inhibited both superoxide dismutase and catalase activities. Gutimin succinate strengthened the inhibitory action of gutimin on lipid peroxidation and prevented its inhibitory effect on superoxide dismutase activity in all the organs studied. Therefore, the parallelism in antihypoxic and antioxidant effects was revealed for the aminothiols and triazinoindol derivatives.

ФАРМАКОКИНЕТИКА L-ОРНИТИН- L-АСПАРТАТА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

¹Мараховский Ю.Х., ¹Горгун Ю.В., ¹Калачик В.П., ¹Тарасюк И.В., ¹Веялкина Н.Н., ¹Гринцевич И.Б., ²Куваева З.И.

¹*Белорусская медицинская академия последипломного образования; Минск, Беларусь;*

²*Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Данные по фармакокинетики аминокислот позволяют дать более детальную характеристику самих аминокислот, уточнить особенности их метаболизма, эффективность и безопасность аминокислот, особенно при их использовании как лекарственных препаратов [1, 2]. Одним из ярких примеров использования аминокислот как лекарственных средств является применение в гастроэнтерологической клинике L-орнитин- L-аспартата. Однако фармакокинетика L-орнитин-L-аспартата практически не изучена.

Цель исследования – определить фармакокинетику L-орнитин-L-аспартата по основной аминокислоте – орнитину, и с учетом изменений аминокислот, сопряженных с метаболизмом орнитина – аргинин и цитруллин.

Фармакокинетика определялась по содержанию в крови орнитина, аргинина и цитруллина при внутривенном и оральном введении L-орнитин-L-аспартата у двух видов животных – крыс и кроликов. Использованные препараты: «Гепа-Мерц» - концентрат для приготовления раствора для инфузий, 500 мг/мл L-орнитина-L-аспартата, «Гепа-Мерц»- гранулят, 5 г гранулята содержит 3 г L-орнитина-L-аспартата. Животному вводилась однократная болюсная доза ГЛФ-бренд (Нера-Merz® infusion solution concentrate) – доза в соответствии с максимальной дозой, указанной в инструкции для человека, с перерасчетом на вид животного. В процессе всего эксперимента соблюдались правила GLP. Для оценки фармакокинетики содержание аминокислот (высокоэффективная жидкостная хроматография с предколоночной дериватизацией) определяли в 9-ти временных точках с равными интервалами при внутривенном введении и в 10-ти при оральном введении. Статистическая обработка данных проведена с использованием программы Statistica, версия 6.1, серия 1203d. Для оценки фармакокинетики использовался дисперсионный анализ (модуль ANOVA/MANOVA), являющийся стандартом для такого рода исследований [3].

Результаты фармакокинетики по содержанию орнитина в крови представлены в

таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Расчетные величины фармакокинетики по содержанию в крови орнитина у крыс при внутривенном и оральном введении.

Фармакокинетический параметр	Введение препарата	Среднее	Доверит. -95,0%	Доверит. +95,0%
AUC (h • μmol) • L ⁻¹	Внутривенно	850	444	1143
	Орально	577	289	864
T _½ (h)	Внутривенно	0,27	0,12	0,42
	Орально	2,4	1,7	3,2
C _{max} ($\mu\text{mol/L}$)	Внутривенно	1161	520	1782
	Орально	158	133	183

Примечание: AUC (h • μmol) • L⁻¹- площадь под кривой концентрация-время, T_½ (h) - время полувыведения в часах, C_{max} ($\mu\text{mol/L}$) - максимальная концентрация.

Таблица 2

Расчетные величины фармакокинетики по содержанию в крови орнитина у кроликов при внутривенном и оральном введении.

Фармакокинетический параметр	Введение препарата	Среднее	Доверит. -95,0%	Доверит. +95,0%
AUC (h • μmol) • L ⁻¹	Внутривенно	793	444	1143
	Орально	536	260	811
T _½ (h)	Внутривенно	0,73	0,54	0,92
	Орально	2,9	1,7	4,1
C _{max} ($\mu\text{mol/L}$)	Внутривенно	1058	592	1524
	Орально	134	114	154

Как следует из представленных результатов, достоверных отличий у крыс, по сравнению с кроликами, в фармакокинетических параметрах не обнаружено, за исключением более короткого периода полувыведения (T_½ (h)) у крыс. Впервые доказано, что степень всасывания и фармакокинетика у L-орнитин-L-аспартата одинаковы у крыс и кроликов, так как нет отличий в показателях C_{max} и AUC.

Результаты оценки содержания аргинина и цитруллина: в группе крыс после внутривенного введения препарата отмечается достоверно (p<0,05) более высокое содержание аргинина (81,1 при ДИ 95% 67,5–94,8 против 48,2 при ДИ 95% 33,0–63,4), и цитруллина (171,1 при ДИ 95% 154,4–187,9 против 116,2 при ДИ 95% 79,5–152,9) по сравнению с группой животных, которым препарат не вводился. Эти достоверные

отличия в содержании цитруллина определяются за счет подгруппы животных на 90 и 180 минуте после введения L-орнитин- L-аспартата (Лямбда Уилкса 0,472, F(18, 78) =1,9716, p=0,021). Аналогичные данные получены и у кроликов: после внутривенного введения препарата отмечается достоверно ($p < 0,05$) более высокое содержание аргинина и цитруллина по сравнению с интактными животными.

При оральном введении L-орнитин- L-аспартата у крыс отмечается недостоверное ($p > 0,05$) более высокое содержание только цитруллина (104,7 при ДИ 95% 95,6–113,9 против 86,6 при ДИ 95% 56,9–116,3), по сравнению с группой животных, которым препарат не вводился. У кроликов достоверных отличий в содержании аргинина и цитруллина в группе после введения препарата, по сравнению с группой животных без введения препарата, не выявлено.

Таким образом, впервые доказана фармакоэквивалентность L-орнитин-L-аспартата у крыс и кроликов. Впервые обнаружено, что внутривенное введение препарата L-орнитин-L-аспартата сопровождается повышением уровня аминокислот, сопряженных с метаболизмом орнитина, – аргинина и цитруллина, что диктует необходимость дальнейшей оценки этого эффекта в клинической практике.

Литература:

1. Synober L ed. Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in clinical nutrition. Boca Raton: CRC Press; 2004. p. 595–612.
2. Young VR. Introduction to the 2nd amino acid assessment workshop. J Nutr. 2003; 133: Suppl.:2015S–20S.
3. Note for Guidance on Modified Release Oral and Transdermal Dosage Forms: Section II (Pharmacokinetic and Clinical Evaluation) CPMP/EWP/280/96 Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General Considerations. FDA, March 2003.

PHARMACOKINETICS OF L-ORNITHINE-L-ASPARTATE: EXPERIMENTAL STUDY

¹Marakhouski Y.Kh., ¹Gorgun J.V., ¹Kalachik V.P., ¹Tarasiuk I.V., ¹Veyalkina N.N., ¹Hryntsevich I.B., ²Kuvaeva Z.I.

¹Byelorussian Medical Academy Postgraduate Education, Minsk, Belarus;

²Institute of Physical Organic Chemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

Pharmacokinetic studies are useful in characterizing the behavior of the administered amino acids and improving of our understanding of their mechanism of action in terms of the metabolites involved and may be used as a tool to establish an upper limit for safe administration in humans. Till now, L-ornithine-L-aspartate pharmacokinetic has not been sufficiently studied, in spite of the fact that such a medication is widely used in clinic.

L-ornithine-L-aspartate pharmacokinetic studies performed by plasma concentrations of ornithine (ORN), and its related amino acids –arginine (ARG) and citrulline (CIT), in rats and rabbits, with orally (every hours after administered- 10 points) and intravenous (every half-hours after administered- 9 points) after maximum bolus doses administration.

There were no significant differences (ANOVA) between rats and rabbits in the pharmacokinetic parameters calculated (C_{\max} ($\mu\text{mol/L}$), AUC ($\text{h} \cdot \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), $T_{1/2(\text{h})}$), for the

ORN plasma concentrations following the oral and intravenous administration.

ARG and CIT plasma concentrations were elevated after the intravenous administration, but not after the oral one, in both rats and rabbits. In summary: 1- for the first time in rats and rabbits L-ornithine-L-aspartate pharmacoequivalence has been demonstrated; 2- for the first time it has been found that the L-ornithine-L-aspartate intravenous administration to rats and rabbits is associated with arginine and citrulline elevation in blood plasma, it dictates the necessity of estimation of this effect in clinical practice.

**ДИНАМИЧЕСКОЕ (ВО ВРЕМЕНИ) ИССЛЕДОВАНИЕ
АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНОГО
ТИАЗОЛОИНДОЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ ВМ-606 В МОДЕЛИ ГИПОКСИИ С
ГИПЕРКАПНИЕЙ**

Марышева В.В., Шабанов П.Д.

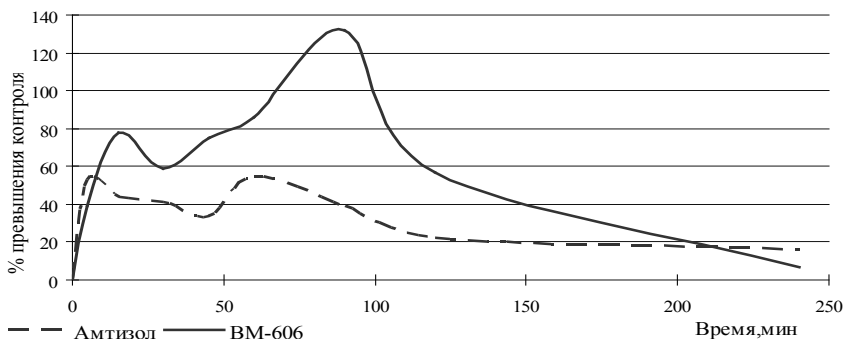
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Среди разрабатываемых на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова новых антигипоксантов соединение тиазолоиндольной структуры с лабораторным шифром ВМ-606 отличается высокими защитными свойствами на нескольких моделях гипоксии [1]. С целью изучения фармакологических свойств нового соединения была исследована зависимость активности препарата от времени введения в модели гиперкапнической гипоксии на белых беспородных мышцах-самцах в сравнении с известным антигипоксантом атизолом, который являлся структурным прототипом при направленном синтезе ВМ-606 [2].

Соединение ВМ-606 в дозе 50 мг/кг вводили опытным животным внутрибрюшинно в виде тонкой суспензии в твине-80 за 5, 15, 30, 45, 60, 60, 120, 240 мин и 24 ч до наступления гипоксического эпизода. Затем животных помещали в банки объемом 0,25 л, закрывали герметичными крышками, переворачивали и опускали крышки под воду во избежание подсоса воздуха. Препаратом сравнения служил амтизол в эквимольной дозе 25 мг/кг. Контрольные животные получали инъекцию физиологического раствора. Регистрировали время жизни опытных животных [3].

Уже через 5 мин после введения ВМ-606 повышал продолжительность жизни опытных животных на 39%. Далее активность соединения продолжала нарастать и достигала первого максимума через 15 мин после введения (78%), затем следовала стабилизация и даже небольшой спад на 30-й мин (62%) с последующим неуклонным нарастанием эффективности препарата до второго максимума через 90 мин: в этом случае регистрировали увеличение продолжительности жизни опытных животных на 132% по отношению к контролю. Через 120 мин ВМ-606 увеличивал продолжительность жизни лишь на 57% и далее во времени антигипоксическая активность снижалась. Через 4 ч и 24 ч после введения она составляла лишь 7–9%. Таким образом, эффективность нового антигипоксанта в зависимости от времени введения препарата (рис.) представляет собой кривую с двумя максимумами – при 15 мин и 90 мин с наибольшей активностью в последней точке.

Действие препаратов в зависимости от времени введения



Известный антигипоксикант – амтизол в этой модели имел похожий характер зависимости эффективности от времени введения – кривая с двумя максимумами, практически равными по величине: при 5 мин – 53% и при 60 мин – 55% превышения продолжительности жизни опытных животных. Через 120 мин амтизол на 22% увеличивал время жизни мышей. Через 4 ч и 24 ч после введения препарат выказывал также практически одинаковую фоновую активность (15–16%).

Таким образом, характер исследованной зависимости для обоих антигипоксикантов имеет сходный характер – кривая с двумя максимумами. Амтизол – водорастворимый препарат, VM-606 нерастворим в воде. Вследствие этого первый максимум у амтизола наступает раньше (5 мин), чем у VM-606 (15 мин). Второй максимум у VM-606 отсрочен на 30 мин в сравнении с амтизолом и является более мощным (132%) по сравнению с первым максимумом (78%). К 120 мин у обоих препаратов активность падает примерно одинаково и к 240 мин остается некая фоновая величина, которая ощущается и через 24 ч после введения, причем у амтизола она почти в 2 раза выше. По полученным данным препарат VM-606 в модели гиперкапнической гипоксии по эффективности в точках максимумов активности превосходит препарат сравнения в 1,5 и 2,4 раза. Новое поколение антигипоксикантов тиазолоиндольной структуры, в частности VM-606, значительно превосходят по антигипоксической активности прототип тиазольной структуры – амтизол.

Литература:

1. Патент 2188824 РФ. 2-Амино-4-ацетилтиазоло[5,4-b]индол, защищающий организм от гипоксии и токсического отека легкого / Марышева В.В., Торкунов П.А., Шабанов П.Д. и др.; Военно-мед. академия. – №200131823/04; заявл. 18.12.2000; опубл. 10.09.2002, Бюл. 25. – 4 с.
2. Марышева В.В., Гаврев А.И., Шабанов П.Д. и др. Синтез и фармакологическая активность производных тиазоло[5,4-b]индола // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2007. – Т. 5, № 2. – С.2-19.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: ЗАО «ИИА Ремедиум», 2000. – 398 с.

DYNAMIC (TIME-DEPENDENT) STUDY OF ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF THE THIAZOLOINDOLE DERIVATIVE VM-606 IN HYPOXIA WITH HYPERCAPNIA MODEL

Marysheva V.V., Shabanov P.D.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

The thiazoloindole derivative VM-606 and amthizol demonstrated significant antihypoxic activity in the model of hypoxia with hypercapnia in mice. The regularity of action for both antihypoxants was the same and characterized by curves with double maximums. The first maximum of action for amthizol was in 5 min while for VM-606 was in 15 min, which was related to water solubility of amthizol. The second maximum of VM-606 (+132%) delayed for 90 min in comparison with the first maximum (+78%). The activity of both the compounds was reduced in the same manner for up to 120 min and then it persisted on the same minimal level up for 24 h. Therefore, the antihypoxic activity of VM-606 is by 1.5 and 2.4 times higher than that of amthizol in the time intervals studied.

АНАЛОГ МЕЛАНОСТАТИНА АЛАПТИД МЕНЯЕТ МЕЖПОЛУШАРНУЮ АСИММЕТРИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА У МЫШЕЙ ЛИНИЙ DBA/2 И C57BL/6

Михеев В.В., Шабанов П.Д.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Инбредные линии мышей DBA/2 и C57BL/6 широко используются в исследованиях по генетике поведения и фармакогенетике. Животные этих генотипов различаются практически по всем исследованным нейрохимическим, физиологическим и поведенческим показателям, что позволило выделить их в диаметрально противоположные универсальные «психологические» типы. В частности, выраженные межлинейные различия наблюдаются по показателям двигательной и исследовательской активности в условиях незнакомой обстановки – в тесте «открытое поле» [1]. Есть основания полагать, что основой описанных межлинейных различий являются наследственные особенности функционирования дофаминергической системы мозга [2]. Известно также, что данная нейромедиаторная система, по крайней мере, у некоторых исследованных линий крыс функционирует асимметрично. С этой точки зрения, указанные линии мышей являются удобным объектом для исследования роли дофаминовых рецепторов в организации функциональной межполушарной асимметрии при реализации элементов индивидуального и внутривидового поведения.

Целью работы являлось исследование влияния неспецифического агониста D₂-рецепторов дофамина пептидной природы алаптида на индивидуальное поведение самцов мышей двух линий в условиях функционирования целого мозга и при временном выключении одного из полушарий.

Опыты проводили на половозрелых самцах мышей линий C57BL/6 и DBA/2 (n=50 в обоих случаях). «Открытое поле» представляло собой квадратную площадку (60 x 60 см) с 9 отверстиями диаметром 20 мм. Запись этограммы проводилась с

помощью персонального компьютера по программе OPEN FIELD 2.1. В течение 3 мин регистрировали суммарную продолжительность локомоции, подъемов на задние лапы, заглядываний в отверстие, движения на месте и груминга. Временную инактивацию одного из полушарий достигали с помощью метода распространяющейся депрессии [3]. Для этого за двое суток до начала опытов в кости черепа над соответствующим полушарием высверливалось отверстие диаметром около 1 мм. За 20 мин до опыта через это отверстие на кору мозга апплицировали кусочек фильтровальной бумаги, смоченной 25% раствором калия хлорида. Алапид вводили внутривентриально в дозе 1 мг/кг объемом 0,1 мл на 10 г массы животного за 15 мин до начала эксперимента. Контрольные особи получали аналогичное количество изотонического раствора натрия хлорида. Полученные данные обрабатывали статистическими методами с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

У контрольных мышей линии C57BL/6 суммарная продолжительность локомоции составила $94,2 \pm 7,77$ с, а у особей линии DBA/2 – $57,8 \pm 5,58$ с, то есть имели место межлинейные различия ($p < 0,01$). В то же время продолжительность движения на месте была больше у мышей линии DBA/2 по сравнению с C57BL/6 – $54,6 \pm 5,09$ с и $14,5 \pm 4,12$ с соответственно ($p < 0,01$). Различий между линиями по числу подъемов на задние лапы и заглядываний в отверстия обнаружено не было.

У контрольных животных линии DBA/2 левое полушарие доминировало в регуляции подъемов на задние лапы, а правое – в контроле движения на месте. У особей линии C57BL/6 правая гемисфера была ведущей в регуляции продолжительности локомоции, и симметричное функционирование полушарий наблюдалось в отношении подъемов на задние лапы. Во всех остальных случаях роль коры полушарий в регуляции элементов индивидуального поведения мышей двух линий выявлено не было.

У животных с интактным мозгом введение алапиды повышало продолжительность локомоции и снижало длительность движения на месте у мышей линии DBA/2, а у особей линии C57BL/6 увеличивало продолжительность подъемов на задние лапы. Опыты с унилатеральной инактивацией одного из полушарий на фоне применения алапиды показали, что у мышей обеих исследованных линий данный препарат в большей степени влияет на доминирующее полушарие. В результате такого влияния все случаи функциональной межполушарной асимметрии, зарегистрированные до применения препарата, нивелировались.

Подводя итог данной серии экспериментов, можно сделать некоторые обобщающие выводы. Во-первых, у самцов мышей имеет место функциональная межполушарная асимметрия, паттерн которой у линий C57BL/6 и DBA/2 различен и отличается от такового у беспородных животных. Во-вторых, в подавляющем большинстве случаев кора, как левого, так и правого полушария вообще не принимает значимого участия в реализации элементов индивидуального поведения. В-третьих, неспецифический агонист дофаминовых D_2 -рецепторов алапид на индивидуальное поведение самцов мышей обеих исследованных линий в условиях функционирования целого мозга влиял незначительно. В-четвертых, такое незначительное влияние препарата на поведение в условиях функционирования целого мозга приводит к существенному изменению паттерна функциональной межполушарной асимметрии, выявляемому с помощью унилатеральной корковой инактивации. В-пятых, дофаминовые D_2 -рецепторы играют значительную роль в формировании паттерна функциональной межполушарной

асимметрии головного мозга в регуляции элементов индивидуального поведения.

Полученные факты, на наш взгляд, отражают наличие дисбаланса дофаминергической системы у мышей линии DBA/2, который находит свое отражение и в межполушарной асимметрии, отличной от таковой у особой линии C57BL/6. Это предположение основано на том, что алаптин сильнее влиял на локомоцию у мышей линии DBA/2. А известно, что многие нейропептиды, в том числе и меланостатин, не оказывают значимого влияния на здоровый мозг, но при наличии дисфункций активно вмешиваются в деятельность нейромедиаторных систем и противостоят патологии.

Литература:

1. Cabib S., Algeri S., Perego C., Puglisi-Allegra S. Behavioral and biochemical changes monitored in two inbred strains of mice during exploration of an unfamiliar environment // *Physiol. and Behav.* - 1990. - Vol. 47. - № 4. - P. 749-753.

2. Cabib S., Puglisi-Allegra S. Genotype-dependent effects of chronic stress on apomorphine-induced alterations of striatal and mesolimbic dopamine metabolism // *Brain Res.* - 1991. - V.542. - № 1. - P. 91-96.

3. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. - 400 с.

MELANOSTATIN ANALOGUE ALAPTIDE CHANGES THE BRAIN INTERHEMISPHERIC ASYMMETRY IN DBA/2 AND C57BL/6 MICE

Mikheev V.V., Shabanov P.D.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

Functional brain interhemispheric asymmetry was revealed in C57BL/6 and DBA/2 mice compared to SHR bred animals. In these mice, the cortex of both the left and the right hemispheres did not participate in realization of individual behavior. Alaptide, a nonspecific D₂-agonist of dopamine, changed the behavior slightly, but corrected significantly the brain asymmetry, which was determined after unilateral cortical inactivation (Leao's spreading depression). It is suggested, that this phenomenon is connected with D₂-receptors of dopamine.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ НООТРОПНОГО ПРЕПАРАТА – ГОМОПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

Мойсеёнок А. Г., Кагковская И. Н., Радуга Е. Ф., Гупенец Д.В., Ельчанинова М.А
*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал,
Гродно, Беларусь*

В РБ зарегистрирован препарат «Пантогам» (кальциевая соль R-гомопантотеновой кислоты), являющийся синтетическим аналогом ГАМК, с 1980 г. широко применяемый в советской и российской психоневрологии. Для гомопантотената (ГП) характерна низкая токсичность, высокая биодоступность, сочетание нейрометаболических, нейропротекторных и нейротрофических свойств. Метаботропные ГАМК-рецепторные свойства предполагают системные свойства препарата как в ЦНС, так и в

периферических нейроструктурах. Кроме того, соединени воздействует на биосинтез кофермента А (КоА), кофактора многочисленных энергетических и синтетических реакций, поскольку является конкурентным ингибитором пантотенаткиназы – ключевого фермента биосинтеза КоА [1]. Это предполагает возможную модуляцию ГП прооксидантно-антиоксидантного баланса, тем более, что в опытах *in vitro* выявлена высокая антиоксидантная активность пантогама, особенно в сочетании с предшественниками КоА (И. Н. Луконькин и др., 1998) [1].

В настоящем исследовании изучен эффект курсового введения субстанций D-ГП (пантогам) или D,L-ГП (пантогам-актив) на показатели окислительного стресса (ОС) у животных, которым инициировали ОС путем двукратного введения хлорида алюминия (модель алюминиевого нейротоксикоза, АТ) [2].

В эксперименте было использовано 48 крыс линии Wistar массой 160-180 г. Животные были разделены на 6 групп (n=8). 1-я группа – контрольная. У животных 2 группы вызывали токсикоз и нейродистрофическое поражение структур головного мозга, что достигалось внутрибрюшинным введением 10% раствора хлорида алюминия (190 мг/кг) за 12 и 10 суток до декапитации. Оставшимся четырем группам в течение месяца внутрижелудочно вводили гомопантотеновую кислоту (D- форму) и гомопантотеновую кислоту (D, L- форму) в дозе 300 мг/кг массы тела. На фоне данной схемы введения у животных 4-6 групп вызывали развитие алюминиевого токсикоза [3], аналогично 2 группе.

Установлено, что в плазме крови животных с АТ (2, 4 и 6-я группы) существенно и достоверно увеличивался суммарный уровень продуктов ОС, реагирующих с N,N-диметил-p-фенилендиамином, тогда как при введении D- или D,L-ГП этого не наблюдалось. Аналогичным образом происходили изменения в уровне белковых SH-групп плазмы (снижение) и восстановленного глутатиона в эритроцитах. Следовательно, системного прооксидантного эффекта при введении субстанций ГП не выявлено, хотя на фоне АТ он отчетливо был выражен.

В цельном гомогенате мозга подопытных животных эффект АТ проявился в росте тиобарбитурат-реагирующих продуктов (ТБК-РП, малонового диальдегида), что не наблюдалось при назначении ГП. Динамика ТБК-РП при моделировании реакции Фентона показала отсутствие эффекта АТ по сравнению с контролем, тогда как в случае назначения D- и D,L-ГП наработка ТБК-РП оказалась заметно сниженной. Этот эффект имел место также в группе животных, у которых АТ вызывали на фоне предварительного введения D,L-ГП.

Исследование показателей системы глутатиона (общий, окисленный, восстановленный), а также ферментов его метаболизма (глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа) позволили выявить стабильное состояние редокс-статуса глутатиона при некоторой тенденции к увеличению исследованных его форм во всех экспериментальных группах животных. Эти изменения происходили на фоне снижения H₂O₂-метаболизирующей глутатионпероксидазы и дегидрогеназы пентозофосфатного цикла. Однако последняя не изменялась при курсовом введении D- или D,L-ГП.

Полученные результаты свидетельствуют, что обе изученные формы гомопантотената в некоторой степени влияют на прооксидантно-антиоксидантный баланс ЦНС, но в механизме действия этой нейротропной субстанции антиоксидантные эффекты, по всей вероятности, не имеют ведущего значения. Однако бесспорное конкурентное

действие ГП относительно пантотеновой кислоты (витамина В₅) в реакции биосинтеза КоА (пантотенаткиназа) предполагает модуляцию структуры фонда кофермента, регуляторно связанного с ним редокс-статуса глутатиона, что может обуславливать целый ряд биохимических эффектов гомопантотената, приводящих к осложнениям лекарственной терапии [4].

Литература:

1. Ноотропные препараты. Пантогам. Двадцатилетний опыт применения в психоневрологии. Нейробутал. Кальциевая соль Гамма-оксималяной кислоты. Результаты клинического изучения. Сборник статей. Редакц. коллегия: проф. В.Н. Краснов, проф. В.И. Гунар, докт. хим. наук В.М. Копелевич и др. – 1998. – 170 с.
2. Агаджанов М.И., Ваградян А.Г. и др. Влияние обогащенного пролином синтетического пептида на содержание металлопротеинов и перекисное окисление липидов у крыс при алюминиевом нейротоксикозе (модель болезни Альцгеймера) // Нейрохимия. – 2000. – Т.17, № 4. – С. 294-297.
3. Мойсеенок А.Г., Гуринович В.А., Шевалье А.А. и др. Модулирование системы кофермента А и глутатиона производными пантотеновой кислоты при интоксикации хлористым алюминием // Здоровье и окружающая среда, Минск. – 2008. – Вып. 12. – С. 358-364.
4. Zhang Y.M., Chohnan S., Virga K.G. Chemical knockout of pantothenate kinase reveals the metabolic and genetic program responsible for hepatic coenzyme A homeostasis // Chem. Biol. – 2007. – Vol. 14, № 3. – P. 291-302.

STUDY OF THE ANTIOXIDANT EFFECT OF THE HOMOPANTOTHENIC ACID NOOTROPIC PREPARATION

Moiseenok A.G., Katkouskaya I.N., Raduta E.F., Gupenets D.V., Yelchaninova M.A.
*Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch,
Grodno, Belarus*

The oxidative stress parameters in albino *Wistar* rats were investigated during 4 weeks homopantothenic acid administration combine with aluminium toxicosis. In contrast to the aluminium neurotoxicosis the homopantothenate preparations neither provoke oxidative stress, nor reduced accumulation of Fenton reaction products in brain tissue.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТРАМАДОЛА И АНАЛЬГИНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ БОЛИ

Никифорова И.Н., Жукова И.А., Чукарина Т.В., Павленко В.С.
Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Комбинации нескольких лекарственных средств с однонаправленным действием с целью усиления конечного эффекта широко используются при лечении острой и хронической боли. При этом наряду с повышением степени обезболивания может наблюдаться снижение как количества, так и выраженности побочных эффектов за

счет уменьшения используемых в комбинации доз составляющих ее компонентов.

В литературе имеются сведения об усилении анальгетического действия трамадола и анальгина при их совместном введении, в частности, на модели висцеральной боли. Однако в большей степени эффект комплекса зависит от весового соотношения используемых препаратов и может быть как аддитивным, так и антагонистическим. [1]

Целью работы являлось определение анальгетической активности трамадола и анальгина при совместном введении на модели острой термической боли в опытах на мышах.

Опыты проведены на мышах-самцах линии СВА массой 22–26 г, полученных из вивария Отдела биологических моделей Института фармакологии и биохимии НАН Беларуси.

Метод изучения болевой чувствительности «отдергивание хвоста» заключается в регистрации латентного периода болевой реакции при воздействии на кожу хвоста животного теплового пучка от лампы анальгезиметра Tail Flick (Columbus Instruments, США). В опыт брали животных, исходный латентный период болевой реакции которых находился в диапазоне 2–4 секунд. Во избежание нанесения ожога на кожу хвоста максимальная длительность болевого воздействия составляла 10 секунд. Показатели болевой чувствительности выражали в процентах от максимально возможного эффекта с использованием общепринятой формулы. [2]

Исследуемые препараты вводили однократно внутривенно в объеме 0,1 мл/10 г массы тела в дозах 20–50 мг/кг для трамадола, 100–600 мг/кг для анальгина и 55–220 мг/кг для комплекса.

Анальгетический эффект трамадола развивался уже через 15 минут после введения. К 30-й минуте действие препарата достигало наибольшей величины, составляя для разных доз от 48 до 100% МВЭ, после чего постепенно снижалось. Через 3 часа после введения продолжительность латентного периода болевой реакции экспериментальных животных почти не отличалась от показателей, зарегистрированных у животных контрольной группы. Исследуемая активность к этому времени сохранилась только в группе животных, получивших наибольшую из испытанных доз трамадола, действие которой наблюдалось свыше 6 часов. Показатель ED_{50} трамадола через 30 минут после введения составил $19,51 \pm 2,48$ мг/кг по критерию двукратного удлинения латентного периода ответной реакции по сравнению с исходной величиной.

При введении анальгина в дозах, начиная с 200 мг/кг, эффект проявился также уже через 15 минут, достигнув наибольшей величины в промежутке между получасом и часом после введения. Показатель ED_{50} для анальгина оказался равным $255,83 \pm 44,80$ мг/кг. Полученные данные о сравнительной активности трамадола и анальгина согласуются с литературными данными о примерных эквивалентных дозах этих препаратов [3].

Для совместного введения было выбрано несколько доз трамадола и анальгина, начиная с заведомо неактивных и заканчивая величинами, близкими к их ED_{50} . Во всех примененных комплексах препараты были взяты в фиксированном соотношении равноэффективных доз, составляющем примерно 1:1.

Полученные результаты показали, что при совместном введении анальгина и трамадола в суммарных дозах 220 мг/кг и 110 мг/кг удлинение латентного периода

болевой реакции наблюдалось, как и при введении препаратов по отдельности, уже через 15 минут. К 30-й минуте оно достигло наибольшей величины и постепенно снизилось к концу третьего часа наблюдения. Суммарная доза 55 мг/кг оказалась неэффективной. Величина ED_{50} комплексного препарата через 30 минут после введения составила $91,83 \pm 19,03$ мг/кг. Таким образом, при совместном введении анальгина и трамадола для достижения определенного эффекта требуется ввести одновременно намного меньшие дозы трамадола и анальгина по сравнению с дозами этих препаратов, введенных по отдельности и вызывающих тот же эффект.

Литература:

1. Interaction between metamizol and tramadol in a model of acute visceral pain in rats / Poveda R. [et al.] // *European Journal of Pain*. – 2003. – Vol. 7. - No. 5. – P. 439–448.
2. Some narcotic antagonists in the benzomorphan series / L.Harris and A.Pierson // *Journal Pharmacologie Experimental Therapeutics*. – 1964. – Vol. 143. – P. 141–148.
3. Use of intravenous patient-controlled analgesia for the documentation of synergy between tramadol and metamizol / A.Montes, W.Warner, M.M.Puig // *British Journal of Anaesthesia*. – 2000. – Vol. 85. - No. 2. – P. 217–223.

INTERACTION BETWEEN TRAMADOL AND ANALGIN IN A MODEL OF ACUTE PAIN

Nikiforova I.N., Zhukova I.A., Chukarina T.V., Pavlenko V.S.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The combination of Tramadol and Analgin in certain proportion leads to the increase of analgesic effect in the model of acute thermal pain in experiments with mice.

РОЛЬ ОКСОФЕРРИЛЬНЫХ ФОРМ МИОГЛОБИНА, ГЕМОГЛОБИНА И ФЕНОЛСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ТИАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Опарин А.Ю., Коновалова Н.В., Пилецкая Т.П., Степуро И.И.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал, Гродно, Беларусь

При взаимодействии пероксида водорода с ферри-формами миоглобина лошади и гемоглобина человека формируются высокореакционные оксоферрильные формы гемопротеинов, которые окисляют тиамин и его фосфорные эфиры до тиохрома, тиаминдисульфида и их фосфатов соответственно. Тиамин не входит в гемовый карман и не взаимодействует с оксоферрильным катионом или радикалом порфирина гемопротеинов. Тиамин окисляется до тиохрома и тиаминдисульфида при взаимодействии с тирозильными радикалами, образовавшимися вследствие восстановления порфириновых радикалов остатками тирозина белковых макромолекул.

Фенольные соединения на 1-2 порядка увеличивают выход продуктов окисления

тиамина и его фосфорных эфиров под действием оксоферрильных форм миоглобина или оксоферрильных форм гемоглобина. Тирозин, тиамин, салициловая кислота, а также другие фенольные соединения проникают в гемовый карман и восстанавливают оксоферрильный катион в ферри-катион. Образовавшиеся тирозильные и феноксильные радикалы окисляют тиамин до тиохрома и тиаминдисульфида. Тиамин и его фосфорные эфиры, в свою очередь, ингибировали образование димеров тирозина или димеров фенольных соединений.

Однако наблюдаются и существенные различия в свойствах оксоферрильных форм этих гемопротеинов. Для оксоферрильной формы гемоглобина характерна быстрая трансформация в метгемоглобин, протекающая, как под действием пероксида водорода, так и тирозина, фенольных соединений. Оксоферрильная форма миоглобина более стабильна. Инкубация метгемоглобина с пероксидом водорода сопровождалась образованием сшивок между полипептидными цепями гемоглобина, образованием агрегатов. Эти отличия в свойствах оксоферрильных форм миоглобина лошади и оксоферрильных форм гемоглобина человека, вероятно, вызваны наличием сульфгидрильных групп в макромолекуле гемоглобина, а также вызваны четвертичной структурой гемопротеина. Макромолекула гемоглобина человека содержит остатки цистеина: Cys-104 в α -цепи и Cys-93, Cys-112 в β -цепи соответственно [1]. Макромолекула миоглобина из сердца лошади не содержит в своем составе остатков цистеина.

Четыре субъединицы гемоглобина объединены в тетрамер, и каждая субъединица находится в контакте с функциональными группами других субъединиц. Мы предполагаем, что долгоживущие тирозильные радикалы восстанавливаются до нейтральных остатков тирозина сульфгидрильными группами остатков цистеина, принадлежащих соседним полипептидным цепям, контактирующим с данной субъединицей. В результате этой реакции образуются тиольные радикалы, локализованные на цистеиновых остатках полипептидных цепей гемоглобина.

После инкубации метгемоглобина с тиамином и пероксидом водорода происходило образование аддуктов тиамина с сульфгидрильными группами цистеиновых остатков гемоглобина. Мы предполагаем, что в результате взаимодействия тиольных радикалов цистеиновых остатков гемоглобина с тиольными радикалами тиольной формы тиамина образуются смешанные дисульфиды тиамина и гемоглобина, например,



Обработка гемоглобина одним молекул параклормеркурийбензоата (ПХМБ) приводит к модификации SH –группы цистеина-93 и диссоциации макромолекулы гемоглобина на субъединицы. При больших избытках ПХМБ происходит диссоциация димеров на цепи. В присутствии двух молекул ПХМБ резко снижается образование аддуктов тиамина с гемопротеином.

В разбавленных растворах гемоглобина (1 мкМ и ниже) тетрамерная молекула гемоглобина диссоциирует на димеры.

Мы показали, что для разбавленных растворов гемоглобина резко снижено образование аддуктов тиамина с сульфгидрильными группами. Это также подтверждает предположение, что тиольные радикалы на белке образуются вследствие внутримолекулярного переноса электрона с сульфгидрильных групп на долгоживущие

тирозинильные радикалы. Полученные результаты позволяют заключить, что после диссоциации макромолекулы гемоглобина на димеры уменьшается число донорных групп (предполагается сульфгидрильных) находящихся на близком расстоянии от долгоживущих тирозинильных радикалов и способных их восстанавливать. Таким образом, оксоферрильные формы гемоглобина и миоглобина, также фенольные соединения, вероятно, играют важную роль в метаболизме тиамин. Обсуждается роль оксоферрильных форм гемопротеинов и лекарственных соединений в окислительной трансформации тиамин и его производных.

Литература:

1. H.Lehmann and R.G. Huntsman. Man's haemoglobins. North-Holland publishing company – Amsterdam, Oxford. 1974, p.- 478.

THE ROLE OF OXOFERRYL FORMS MYOGLOBIN, HEMOGLOBIN AND PHENOL-CONTAINING COMPOUNDS IN OXIDATIVE TRANSFORMATIONS OF THIAMINE AND ITS DERIVATIVES

Oparin A.Yu., Konovalova N.V., Piletskaja T.P., Stepuro I.I.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of NAS of Belarus, Grodno Branch, Grodno, Belarus

Interaction of hydrogen peroxide with ferri- forms of horse myoglobin and human hemoglobin results in formation of reactive oxoferryl forms of hemoproteins which oxidize thiamin and its phosphate esters to thiochrome, thiaminedisulfide and their phosphates respectively.

Phenolic compounds addition increased the yield of oxidative products of thiamine and its phosphate esters under action of oxoferryl forms of hemoproteins by 1-2 orders.

Tyrosine and phenolic compounds can penetrate into heme pocket and reduce oxoferryl form to ferri form. Produced tyrosyl and phenoxy radicals oxidize thiamine to thiochrome and thiaminedisulfide. The role of oxoferryl forms and phenolic compounds in oxidative transformations of thiamine and its derivatives is discussed.

ЭФФЕКТ СЕЛЕНОМЕТИОНИНА НА СЕЛЕНЕМИЮ И АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗ КРОВИ И МЫШЦ У БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ АЦЕТАМИНОФЕНОМ И ЭТИОНИНОМ

Пеховская Т.А., Коваленчик И.Л., Ельчанинова М.А.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал, Гродно, Беларусь

Одной из ключевых проблем современной нутрициологии и медицинской элементологии является предупреждение недостаточности селена у населения, проживающего в регионах с дефицитом по данному элементу в почве, воде, продуктах питания [1]. Положительное воздействие селена при патологических состояниях человека и животных традиционно связывают с выраженным антиоксидантным

эффектом, а также мембраностабилизирующим действием селеноцистеинсодержащих белков [2, 3]. Однако неорганические селеносодержащие субстанции, обладая высокой токсичностью и кумулятивностью, способны сами оказывать повреждающее воздействие на клеточные структуры и усугублять дегенеративные процессы в клетке [2]. Поиск относительно малотоксичных селеновых субстанций и исследование их защитных свойств в условиях развития окислительного стресса является актуальной задачей современной профилактической медицины [1]. В качестве одного из перспективных носителей микроэлемента рассматривается селенометионин, являющийся природным предшественником селеноцистеинсодержащих протеинов.

Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности органической формы селена – селенометионина (SeMet) в предупреждении окислительного стресса при токсическом поражении ацетаминофеном или этионином. Опыты проведены на 42 белых крысах-самках массой 170-190г. Опытным животным вводился водный раствор SeMet на протяжении 10 дней внутрижелудочно в дозе 250 мкг Se/кг ежедневно. Моделирование интоксикации организма белых крыс вызывали введением ацетаминофена (1 г/кг) или этионина (0,4 г/кг) на 2%-ном растворе крахмала внутрижелудочно однократно за 24 ч до декапитации. У животных для дальнейшего анализа выделяли мышцы, плазму крови и эритроциты. Содержание селена в плазме крови крыс измеряли методом атомной абсорбции в графитовой печи с коррекцией фона на приборе Analist600 (PerkinElmer) по методу Gardiner P.H.E. et al. (1995). Активность глутатионпероксидазы в эритроцитах, плазме крови и мышцах измеряли по скорости окисления восстановленного глутатиона в присутствии субстратов H_2O_2 (Кругликова Г.О., Штутман Ц.М., 1976) или трет-бутилгидропероксида (t-BOOH) по методу Моина В.М. (1986).

Результаты атомного абсорбционного анализа показали достоверное увеличение содержания селена на 83,8% по сравнению с контрольными животными в плазме крови опытных крыс, получавших SeMet. Общая глутатионпероксидазная активность, определяемая по реакции с t-BOOH, оказалась достоверно повышенной во всех анализируемых тканях (на 13,1% – в плазме крови, на 23,8% – в эритроцитах, на 33,4% – в мышцах) у животных, получавших SeMet. Однако активность реагирующей с H_2O_2 “селенозависимой” глутатионпероксидазы в плазме крови и мышцах у данных животных возрастала незначительно, в то время как в эритроцитах ее рост был достоверным и составил 69,7% по отношению к контролю.

Под действием ацетаминофена и этионина наблюдалось достоверное падение содержания селена в плазме крови на 14% и 24%, соответственно. Такое изменение сопровождалось снижением глутатионпероксидазной активности в плазме крови, более выраженное для H_2O_2 -метаболизирующей глутатионпероксидазы (на 23,8% в группе с введением ацетаминофена и на 16,7% – этионина). В мышцах животных с введением токсикантов наблюдалось резкое падение активности t-BOOH-метаболизирующей глутатионпероксидазы (на 33,4% в группе ацетаминофена и 26,3% – этионина), тогда как снижение активности H_2O_2 -метаболизирующей изоформы фермента (на 26%) было получено только в группе этионина. Профилактическое введение SeMet частично предупреждало указанные сдвиги, в том числе приводило к резкому возрастанию содержания селена в плазме крови опытных животных, увеличению глутатионпероксидазной активности в эритроцитах, нормализации t-BOOH-метаболизирующей глутатионпероксидазы в плазме крови и H_2O_2 -

метаболизирующего фермента – в мышцах.

Таким образом селенометионин как источник селена способен оказывать модулирующее действие на глутатионпероксидазную активность клеток при интоксикационных синдромах, вызванных введением ацетаминофена или этионина. Кажется очевидным, что такое природное соединение селена как SeMet является эффективным стимулятором пула селеноцистеинсодержащих белков и может быть использовано в качестве носителя микроэлемента в лечебно-профилактических технологиях.

Литература:

1. Moiseenok A.G., Murokh V.I., Pekhovskaya T.A., Zaitsev V.A., Moiseenok Ye.A., Vasil'kevich I.G., Alftan G.V. Prevention of selenium deficiency in nutrition: on the program of the Union State of Russia and Belarus // Проблемы биогеохимии и геохимической экологии. – 2008. – №2(6). – С.111-117.

2. Тутельян В.А., Княжев В.А., Хотимченко С.А., Голубкина Н.А. и др. Селен в организме человека (метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе). – Москва, 2002. – 220 с.

3. Мойсеенок А.Г., Пеховская Т.А., Зайцев В.А. Селен, селеноаминокислоты, селенопротеины: биохимические основы профилактики селенодефицитных синдромов и заболеваний. //Медлайн Экспресс. – 2003.– №4.– С.53-55.

SELENOMETHIONINE EFFECT ON SELENEMIA AND GLUTATHIONE PEROXIDASE ACTIVITIES IN BLOOD AND MUSCLE OF WHITE RATS UNDER ACETAMINOPHEN AND ETHIONINE INTOXICATION

Pekhovskaya T.A., Kovalenchik I.L., Elchaninova M.A.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Grodno Branch, Grodno, Belarus

Preliminary treatment with selenomethionine during 10 days at a dose of 250 microg Se/kg stimulated significant increase of blood plasma Se level and prevented reducing of glutathione peroxidase activities in blood and muscles of white rats under oxidative stress induced by acetaminophen or ethionine.

ВЛИЯНИЕ АКТИВНОЙ ИММУНИЗАЦИИ К ФРАГМЕНТУ ХОЛЕЦИСТОКИНИНА 30-33 (ХЦК-4) НА АЛКОГОЛЬНУЮ МОТИВАЦИЮ И ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС

Рудько О.И., Сергеева Н.И., Обухова М.Ф., Данилова Р.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Известно, что холецистокинин-4 (ХЦК-4), селективный агонист центральных ХЦК-рецепторов 2-го типа и признанный анксиогенный агент, является котрансмиттером опиоидной и дофаминэргической систем мозга и принимает участие в формировании алкогольной зависимости. Для детального изучения физиологических функций

регуляторных соединений широко используется метод активной иммунизации, вызывающей образование антител к данному регулятору, что в большинстве случаев приводит к эффектам, противоположным действию самого регуляторного вещества [1]. Ранее нами было показано, что активная иммунизация к ХЦК-4 белых крыс вызывает длительные анксиолитические и андидепрессивные эффекты [2].

Целью настоящего исследования была оценка эффективности использования иммунизации к ХЦК-4 для возможной коррекции эффектов этанола на поведение и алкогольную мотивацию белых крыс.

Формирование алкогольной мотивации у крыс проводилось за 8-10 недель до начала иммунизации. Выраженность алкогольной мотивации оценивалась по методу свободного выбора предъявлением крысам 15%-ного этанола и воды, для эксперимента отбирались животные, потреблявшие не менее 12 мл 15%-ного раствора этанола в сутки. Этим крыс иммунизировали ковалентным конъюгатом ХЦК-4 с БСА в дозе 150 мкг три раза, с интервалом в 7 дней (первые два раза с иммуностимулятором - адьювантом Фрейнда (АФ)). Контрольной группе вводили физиологический раствор с АФ. Через месяц после начала иммунизации к ХЦК-4 оценивали выраженность поведенческих коррелятов повышенной тревожности в тесте "открытое поле", приподнятом крестообразном лабиринте и тесте неизбегаемого плавания. С целью изучения воздействия иммунизации к ХЦК-4 на формирование алкогольной мотивации алкоголизацию ранее не получавших этанол крыс начинали проводить через 5 недель после начала иммунизации.

В предварительном тестировании крыс со сформированной алкогольной мотивацией нами было установлено, что пьющие крысы более депрессивны и тревожны, чем интактные, что выражалось в большем времени иммобилизации в тесте неизбегаемого плавания и в увеличении показателей, указывающих на наличие в поведении крыс компонентов тревожности и страха в используемых поведенческих тестах. У этанолзависимых крыс, подвергнутых в течение месяца алкогольной депривации, помимо тревожно-депрессивных компонент в поведении наблюдались изменения (повышенная двигательная активность, возбудимость), свидетельствующие о существовании абстинентного состояния.

У иммунизированных животных, длительно предпочитавших этанол в условиях свободного выбора, на фоне депривации наблюдалось восстановление ориентировочно-исследовательской активности и тенденция к нормализации всех параметров поведения к уровню нативных крыс. Таким образом, иммунизация к ХЦК-4 носила выраженный адаптогенный характер и облегчала протекание синдрома отмены у опытных животных.

Последующая в течение трех недель регистрация алкогольной мотивации не выявила каких-либо отличий в уровне потребления 15% этанола между иммунизированными и контрольными крысами с алкогольной зависимостью. Тем не менее при изучении формирования алкогольной мотивации у ранее не получавших этанол крыс нами было показано, что у иммунизированных животных в условиях свободного выбора наблюдалось значительно меньшее потребление 15% этанола, чем у контроля. Длительность эффекта составила, по крайней мере, 50 дней. Таким образом, нами было показано, что активная иммунизация к ХЦК-4 способствует замедлению формирования алкогольной мотивации, но не влияет на существующую алкогольную зависимость. Вероятно, это связано с тем, что длительное потребление алкоголя и со-

стояние абстиненции у животных с алкогольной зависимостью сопровождается столь сильными нейрохимическими изменениями, что биохимические сдвиги, сопровождающие иммунизацию, не в состоянии полностью их компенсировать [3].

Полученные данные могут быть использованы для дальнейшего экспериментального изучения и фармакотерапии алкоголизма и тревожных расстройств. Наблюдаемые нами адаптогенные эффекты иммунизации к ХЦК-4 у крыс со сформированной алкогольной мотивацией на фоне депривации могут быть использованы для разработки новых методов облегчения протекания абстинентного синдрома.

Литература:

1. Р.А. Данилова, И.П. Ашмарин. Инверсная иммунорегуляция поведения и проблема существования регуляторных аутоантител. Успехи физиологических наук. 1994, том 25, N1, с.3-23.

2. Ashmarin I.P., Rud'ko O.I., Danilova R.A., Andreeva L.A. Postponed effect of cholecystokinin fragments 30-33 (CCK-4) and 1-33 (CCK-3) on albino rats behavior. Neuroscience research communications v.34 (3), P 165-173.

3. Ашмарин И.П., Данилова Р.А., Рудько О.И., Обухова М.Ф., Андреева Л.А. Долговременное действие пептидных регуляторов, отложенные и инверсные эффекты холецистокинина –4 и –3. Медицинский академический журнал, 2004, 4(1):4-13.

EFFECTS OF ACTIVE IMMUNIZATION AGAINST CHOLECYSTOKININ FRAGMENT 30-33 (CCK-4) ON ALCOHOL MOTIVATION AND BEHAVIOR OF WHITE RATS

Rud'ko O.I., Sergeeva N.I., Obukhova M.F., Danilova R.A.
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Recently we have described the long-lasting suppression of the anxiety and decrease of depression-like behavior of albino rats after the active immunization against cholecystokinin fragment 30-33 (CCK-4). In the present work we describe that CCK-4 covalently linked to antigen-carrier evokes a long-lasting (at least for two months) suppression of alcohol motivation in voluntary rats and creates a positive effect on the psychoemotional status of alcoholized rats after the ethanol deprivation period. The results also highlight the therapeutic potential of active immunization against CCK-4 for reducing the alcohol withdrawal syndrome.

ВЛИЯНИЕ ФЕНИБУТА И ФЕНОТРОПИЛА НА УРОВЕНЬ АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИТЕЛ НА МОДЕЛИ ЦИКЛОФОСФАМИДНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

Самотруева М.А.

Астраханская государственная медицинская академия, Астрахань, Россия

Среди актуальных проблем экспериментальной и клинической медицины большое

внимание уделяется вопросам психонейроиммунофармакологии. Установленный факт изменения иммунореактивности при большинстве патологических процессов ЦНС представляет собой не только подтверждение теории первенства нейроиммунных взаимодействий в регуляции многих физиологических и патофизиологических процессов, но и имеет прикладное значение, что делает актуальной разработку и более углубленное изучение лекарственных средств, сочетающих в себе психо- и иммунокорректирующие свойства [1, 2].

Целью настоящего исследования явилось экспериментальное изучение влияния фенибута и фенотропила на антителообразование при применении в различные сроки относительно индукции иммуносупрессии.

Исследование выполнено на 60 мышах линии СВА обоего пола 3–4-месячного возраста, полученных из питомника филиала «Андреевка» ГУ НЦБМТ РАМН. Экспериментальное моделирование иммуносупрессии проводили классическим методом: путем интраперитонеального введения ЦФА («Sigma») в дозе 100 мг/кг одновременно с антигенной стимуляцией эритроцитами барана (ЭБ).

Экспериментальные животные были разделены на следующие группы: 1) контроль № 1 – интактные животные (физиологический раствор); 2) контроль № 2 – животные с моделью иммуносупрессии; 3) опыт № 1 – мыши с моделью иммуносупрессии, которым с профилактической целью (за три дня до индукции иммуносупрессии) внутривентриально в течение 3 дней (1 раз в сутки) вводили фенотропил в дозе 25 мг/кг; 4) опыт № 2 – мыши с моделью иммуносупрессии, которым с лечебной целью (через 3 дня после индукции иммуносупрессии) внутривентриально в течение 3 дней (1 раз в сутки) вводили фенотропил в дозе 25 мг/кг; 5) опыт № 3 – мыши с моделью иммуносупрессии, которым с профилактической целью внутривентриально в течение 3 дней (1 раз в сутки) вводили фенибут в дозе 25 мг/кг; 6) опыт № 4 – мыши с моделью иммуносупрессии, которым с лечебной целью внутривентриально в течение 3 дней (1 раз в сутки) вводили фенибут в дозе 25 мг/кг.

Изучение влияния препаратов на гуморальное звено иммунного ответа в условиях иммуносупрессии проводили на основе реакции прямой гемагглютинации (РПГА). Иммунизацию проводили однократно внутривентриально 5×10^8 ЭБ в объеме 100 мкл. Через 7 дней после иммунизации животных выводили из эксперимента с использованием хлороформа, получали сыворотку. Для инактивации комплемента сыворотку прогревали при $t=56^\circ\text{C}$ в течение 30 мин. РПГА для подавления неспецифического связывания антител проводили в 50 мкл 0,5% раствора бычьего сывороточного альбумин (Sigma), в которой последовательно двукратно разводили исследуемые сыворотки, с добавлением 25 мкл 1% взвеси ЭБ. Предварительный учет результатов РПГА производили через 1 час инкубации при $t=37^\circ\text{C}$, реакцию учитывали окончательно через 18 часов ($t=4^\circ\text{C}$). Титр антител выражали в среднегеометрических показателях [3].

Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми «Международной конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986). Для определения вероятных изменений между показателями опытных и контрольных животных использовали *t*-критерий Стьюдента.

Результаты изучения иммунокорректирующих свойств фенибута и фенотропила при трехкратном внутривентриальном введении в дозах 25 мг/кг до антигенной сти-

муляции и индукции иммуносупрессии свидетельствуют о способности препаратов предотвращать спровоцированные циклофосфамидом нарушения антителиобразования. Уровень антиэритроцитарных антител у животных опытных групп № 1 и № 3, превышая соответствующие показатели в контроле № 2 более, чем на 60 % ($p < 0,05$), приближаются к параметрам иммунного ответа животных контрольной группы № 1.

Эксперименты по изучению иммунокорректирующих свойств фенибута и фенотропила в условиях сформировавшейся иммунной недостаточности показали, что введение препаратов после иммунизации и индукции иммунодепрессии способствует восстановлению гуморального звена иммуногенеза. При этом, уровень сывороточных антител у животных опытных групп № 2 и № 4 увеличивается в сравнении с показателями иммунодепрессированных животных контрольной группы № 2 более, чем на 40% ($p < 0,05$), не достигая фоновых значений в контрольной группе № 1.

Таким образом, результаты изучения гуморальной иммунореактивности у животных с моделью иммуносупрессии под влиянием фенибута и фенотропила в аспекте «время-эффект» свидетельствуют о том, что препараты способны предотвращать и ликвидировать нарушения антителиобразования, проявляя профилактический и лечебный иммунокорректирующий эффект.

Литература:

1. Магаева С.В. Нейроиммунофизиология / С.В. Магаева, С.Г. Морозов. – М.: Изд-во ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, 2005. – 160 с.
2. Fleshner M, Laudenslager ML. Psychoneuroimmunology: then and now // *Behav. Cogn. Neurosci Rev.* – 2004. – № 2. – P. 114-130.
3. Хайтов Р.М., Гуцин И.С., Пинегин Б.В. и др. Методические указания по изучению иммуотропной активности фармакологических веществ // *Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ* / Под ред. Р.У. Хабриева.– Москва, 2005.– С. 501–514.

PHENIBUT AND PHENOTROPIL INFLUENCE TO THE LEVEL OF ANTIERYTHROCYTIC ANTIBODIES ON THE MODEL OF CYCLOPHOSPHAMIDE IMMUNOSUPPRESSION

Samotrueva M.A.

Astrakhan State Medical Academy, Astrakhan, Russia

There was investigated the immunocorrective action of phenibut and phenotropil (three-times intraabdominal introduction with doses of 25 mg/kg) using up to antigenic influence and induction of cyclophosphamid immunodepression and also in conditions of developing immune insufficiency. The experimental animals were mice CBA line. The were stated that phenibut and phenotropil was able to prevent and to take off the development of immune pathology.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИНКОРПОРАЦИИ РАДИОНУКЛИДОВ ^{137}Cs И АНТИОКСИДАНТНОГО КОМПЛЕКСА ВИТАМИНОВ

Сергеенко С.М., Свергун В.Т., Коваль А.Н.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Ранее было показано [1], что низкодозовое воздействие от инкорпорированного ^{137}Cs влияет на митохондриальное окисление и отражается на энергетическом статусе клеток.

Цель исследования – оценка состояния системы митохондриального окисления и антиокислительной активности печени белых крыс при инкорпорации ^{137}Cs , а также в условиях поступления антиоксидантного комплекса витаминов.

Опыты проводили на белых лабораторных крысах массой 200 –250 г. Были сформированы 4 группы крыс: контрольная, группа «АОК», группа «Цезий» и группа «Cs +АОК». Животные контрольной группы содержались на стандартном рационе вивария, животным группы «АОК» пятикратно (через день) перорально вводили витамины в количестве (разовая доза): витамин С – 0,2; витамин А – 0,002; витамин Е – 0,08 мг/г веса крысы. Животным группы «Цезий» в течение 7 дней ежедневно скармливали мясо с удельной активностью по ^{137}Cs 600 кБк/кг, крысы группы «Cs+АОК» получали и витамины, и радиоактивный корм аналогично предыдущим опытным группам. Конечная накопленная активность в группах животных с радионуклидной нагрузкой составила 1255 Бк/кг, что адекватно поглощенной дозе в 21 мкГр. В дальнейшем животные декапитировались, часть извлеченной печени для изучения антиоксидантной системы (АОС) заливалась жидким азотом, после чего в навесках ткани определялись содержание малонового диальдегида (МДА) и аскорбиновой кислоты (АК) [2]. Подготовка тканевых препаратов и последующее изучение параметров митохондриального окисления производилась по ранее описанной методике [3]. В настоящей работе изучали следующие показатели: $V_{\text{энд}}$ – скорость дыхания при использовании тканью для окисления эндогенных субстратов; $V_{\text{эк}}$ – скорость дыхания после добавления экзогенного сукцината; $V_{\text{глу}}$ – скорость дыхания после внесения глутамата; рассчитывали коэффициенты $\text{СДжк} = V_{\text{эк}}/V_{\text{энд}}$; $\text{СДглу} = V_{\text{глу}}/V_{\text{энд}}$.

Результаты исследования показали, что при инкорпорации ^{137}Cs отмечается достоверное, на 45%, увеличение $V_{\text{энд}}$. В группе животных, получавших только АОК, $V_{\text{энд}}$ снижалась на 24,7%, в то время как при одновременном воздействии ^{137}Cs и АОК – на 19,9%. У крыс группы «Цезий», показатель $V_{\text{глу}}$ увеличился на 78,1% по сравнению с контролем. Коэффициент СДглу у животных группы «Цезий» имеет тенденцию к увеличению.

В группах животных «АОК» и «Cs+АОК», показатель $V_{\text{глу}}$ имел тенденцию к снижению. Показатель СДглу в группе «АОК» практически не изменялся. В группе «Cs+АОК» коэффициент СДглу достоверно увеличивался на 16,8%. Возможно, это происходило за счет активации мембранного транспорта глутамата.

Введение животным группы «АОК» сукцината достоверно (на 42,3%) увеличивало потребление кислорода гепатоцитами. Коэффициент СДжк при этом возрастал на 64,2%.

Исследование скорости дыхания гомогенатов печени на экзогенных субстратах показало, что у животных групп «Цезий» и «Cs +АОК» показатель В_{як} имел выраженную тенденцию к увеличению – на 32,4% и 19,5% соответственно по сравнению с контролем. Коэффициент СД_{як} в печеночной ткани крыс группы «Цезий» практически не отличался от такового в контроле, что может свидетельствовать о наличии в печени достаточного резерва эндогенного сукцината, для субстратного обеспечения митохондриального окисления при инкорпорации ¹³⁷Cs в дозе 21 мкГр. Наряду с этим достоверное увеличение на 36,6% показателя СД_{як} в гомогенатах печени животных групп «Cs+АОК» и «АОК» может быть результатом воздействия витаминов на состояние клеточных мембран.

При исследовании анти/прооксидантной активности печени животных, получавших исключительно комплекс АОК, отмечалось увеличение на 120% (по сравнению с контролем) содержания МДА. Концентрация аскорбиновой кислоты в гомогенатах печени при этом достоверно увеличивалась на 40%. При инкорпорации ¹³⁷Cs в дозе 21 мкГр содержание АК достоверно увеличилось на 90% по отношению к интактным животным, тогда как уровень МДА стабильно сохранялся на уровне контрольных величин.

Литература:

1. Грицук А. И. Влияние инкорпорированных радионуклидов цезия на ультраструктуру и процессы тканевого дыхания митохондрий кардиомиоцитов / А.И. Грицук и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. – 2002, № 2. – С. 63–70.
2. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K // *Anal. Biochem.* 1979. – Vol 95, №2. – P. 1053-1057.
3. Грицук А. И. Характеристика митохондрий и ультраструктура миокарда крыс в условиях продолжительной инкорпорации радионуклидов ¹³⁷Cs / А.И. Грицук, Т.Г. Матюхина, А.Н. Коваль и др. // *Авиакосмическая и экол. медицина.* – 2002, № 4, С. 50–44.

CHANGE OF PARAMETERS OF MITOCHONDRIAL OXIDATION IN THE RAT LIVERS AFTER INCORPORATION OF ¹³⁷Cs RADIONUCLIDES AND ANTIOXIDANT COMPLEX OF VITAMINS

Sergeenko S.M., Svergun V.T., Koval A.N.
Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

The parameters of mitochondrial oxidation and intensity of peroxidation stress in liver of rats in after feeding them antioxidant complex of vitamins and ¹³⁷Cs incorporation. The injection of exogenous antioxidants in rats with 21 mcGy incorporated ¹³⁷Cs induced the 1.9 fold rise of vitamin C content in liver homogenates. The malonic dialdehyde content was not changed.

СИНТЕТИЧЕСКИЙ АНАЛОГ ДЕЛЬТА СОН-ИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА КОРРЕГИРУЕТ ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ДЕТЕЙ, ПРОХОДЯЩИХ КУРС ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Синюхин А.Б., Тимошинов Г.П., Шабанов П.Д.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

К опасным и недостаточно изученным эффектам цитопении, вызываемой высокодозной химиотерапией, относятся функциональные нейропатии центрального генеза, в частности снижение порога судорожной готовности. Недостаточное внимание к изменениям функционального состояния ЦНС может привести к срыву программы лечения и тяжелым последствиям для больного [1]. Поэтому поиск средств коррекции функционального состояния ЦНС больных, проходящих курс химиотерапии, является важной задачей.

Целью исследования было оценить влияние Дельтарана, оригинального лекарственного препарата на основе синтетического аналога природного дельта сон-индуцирующего пептида (DSIP), на биоэлектрическую активность головного мозга детей, проходящих курс высокодозной химиотерапии по поводу онкологических заболеваний.

Дельтаран принимался 10 детьми в возрасте от 3 до 16 лет. Биоэлектрическая активность регистрировалась компьютерным электроэнцефалографом «Энцефалан – 131». Использовалась схема отведений 10 – 20 с замкнутыми ушными референтами. Записи производилась от 19 монополярных отведений с последующей цифровой реконструкцией в биполярную и средневзвешенную схемы отведений. В процессе анализа данных проводилось топографическое картирование биоэлектрической активности (амплитудный спектр и спектр мощности). Биоэлектрическая активность регистрировалась перед началом и по окончании курса химиотерапии (на фоне выраженной цитопении), а также после выхода из цитопении [2].

В результате были выявлены типичные изменения картины биоэлектрической активности головного мозга, вызываемые химиотерапией. Практически у всех пациентов наблюдались диффузные изменения ЭЭГ, возникновение которых совпадало с началом курса химиотерапии, и которые становились более выраженными с развитием цитопении. Изменения заключались в усилении медленноволновой активности преимущественно в передних отведениях и в усилении межполушарной асимметрии. У двух пациентов развитие цитопении сопровождалось выраженными симптомами раздражения коры головного мозга. У пяти пациентов было обнаружено существенное понижение порога судорожной готовности головного мозга, сопровождаемое пароксизмальной активностью. У двух пациентов наблюдались судороги. Таким образом, полученные результаты с высокой степенью достоверности показывают, что химиотерапия может приводить к токсическому поражению ЦНС.

Пациенты получали Дельтаран 10-дневным курсом во время химиотерапии. Только у одного пациента из десяти, получавших Дельтаран, не наблюдалось какого-либо улучшения. Несмотря на то, что исследованная группа пациентов была малочисленной и неоднородной, наши результаты в достаточной степени доказывают положительное действие Дельтарана на характер биоэлектрической активности во время химиотерапии. Основным показателем эффективности Дельтарана является

выраженное увеличение амплитуды альфа-ритма в затылочных областях коры головного мозга, сопровождаемое коррекцией патологических изменений ЭЭГ. Какими бы ни были индивидуальные характеристики патологических изменений биологической активности головного мозга конкретного пациента, в большинстве случаев Дельтаран делал их менее выраженными.

Полученные результаты показывают, что у большинства пациентов Дельтаран уменьшает патологические изменения биоэлектрической активности головного мозга, вызываемые высокодозной химиотерапией.

Литература:

1. Zarubina, I.V., Nurmanbetova, F.N., Shabanov, P.D. Combination of bemithyl and pyrazidol as an antiasthenic tool in delayed posttraumatic period // Eur. Neuropsychopharmacol. 2005. V.15, Suppl.2. S106.

2. Zarubina I.V., Nurmanbetova F.N., Shabanov P.D. The efficacy of nootropics and antihypoxants in correction of posttraumatic disorders of the brain // Eur. Neuropsychopharmacol. 2005. V.15, Suppl.2. S229.

**DELTA SLEEP-INDUCING PEPTIDE ANALOGUE CORRECTS
THE CNS FUNCTIONAL STATE OF CHILDREN
TREATED WITH ANTIBLASTOMIC CHEMOTHERAPY**

*Sinyukhin A.B., Timoshinov G.P., Shabanov P.D.
Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia*

The purpose of the study was to evaluate the effect of Deltaran, an original drug based on a synthetic analogue of natural DSIP, on brain bioelectric activity of children undergoing massive chemotherapy. Deltaran was administered to 10 children aged 3 – 16 years. Bioelectric activity was registered with the computer electroencephalograph *Encephalan – 131*. Montage 10 – 20 with linked ears reference was used. The recording was made from 19 unipolar leads followed by digital reconstruction into bipolar and average reference montages. In the course of data analysis topographic mapping of bioelectric activity (amplitude and power spectra) was made. Bioelectric activity was registered before the beginning of the course of chemotherapy, after the course (with pronounced cytopenia) and after recovery from cytopenia.

Typical changes in the picture of brain bioelectric activity caused by chemotherapy were found out. Practically all patients exhibited diffuse changes in the EEG that started simultaneously with the beginning of the course of chemotherapy and increased with the development of cytopenia. The changes consisted in augmentation of slow-wave activity mainly in the front leads and in augmentation of hemispheric asymmetry. In two patients development of cytopenia was accompanied by pronounced symptoms of irritation of the cerebral cortex. Five patients showed considerable threshold lowering for readiness for convulsions of the brain accompanied with paroxysmal activity. In two patients convulsions were observed. Thus, the observed effects unambiguously show that massive chemotherapy may lead to toxic impairment of the CNS.

The patients were treated with a 10-day course of Deltaran during chemotherapy. Only one patient out of 10 to whom Deltaran was administered did not show any improvement.

Despite the fact that the group of patients studied was rather small and heterogeneous, our results give sufficient proof of positive effect of Deltaran on the character of the brain bioelectric activity during chemotherapy. The main EEG indicator of the effectiveness of Deltaran is pronounced increase in the amplitude of alpha rhythm in occipital regions of the cerebral cortex accompanied with correction of pathological changes in the EEG. Whatever individual characteristics of pathological changes in the biological activity of the brain of a particular patient were, in most cases Deltaran made them less pronounced. The results obtained show that in most patients Deltaran diminishes chemotherapy-induced pathological changes in the bioelectrical activity of the brain.

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА ОРГАНИЗАЦИЙ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Синяк В.Г.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Нарушение экологического равновесия, загрязнение окружающей среды и другие факторы спровоцировали появление «экогенных» болезней. Хронический психоэмоциональный стресс, ставший неотъемлемой частью техногенной цивилизации, приводит к росту сердечно-сосудистых нарушений, появлению «синдрома хронической усталости», к росту психоневрологических и психосоматических заболеваний [1]. Химическое и радиационное загрязнение способствует увеличению числа заболеваний дыхательной, пищеварительной систем, в том числе злокачественных новообразований.

Совместно с областным центром гигиены и эпидемиологии и общественного здоровья г. Гродно и кафедрой общей гигиены и экологии было проведено анонимное анкетирование по определению субъективной оценки здоровья врачей и среднего медицинского персонала сельских организаций здравоохранения. Для подсчета данных использовался статистический метод. Ниже представлены результаты анализа данных за 2008 год.

В анкетировании приняло участие 115 врачей, большую часть которых составили женщины (89%), работающих в сельских организациях здравоохранения в Сморгонском, Мостовском, Гродненском, Зельвенском, Лидском, Волковысском и Берестовицком районах, в возрасте от 32 до 53 лет, а также средний медицинский персонал (156 сотрудников): акушерки, фельдшеры, медицинские сестры.

63,5% респондентов (врачей) оценивают свое здоровье как «удовлетворительное», 9,8% - как «плохое» и лишь 26,7% респондентов считают, что их здоровье можно отнести к категории «хорошее». Как «удовлетворительное» свое здоровье оценивают 92% фельдшеров, 78% акушерок и 85% медицинских сестер.

Отнести себя к группе здоровых смогло лишь 32% представителя данной профессии, а у 68% респондентов наблюдаются те или иные заболевания. Хронические заболевания органов дыхания (хронический тонзиллит, аллергические и др. заболевания) встречаются в 17, а заболевания сердечно-сосудистой системы – 16 случаях. Наличие желудочно-кишечной патологии, а также артериальной гипертензия может, кроме других причин, объясняться и профессиональными

стрессовыми ситуациями, нерегулярным питанием, о чем сообщили более половины (60%) респондентов.

При заболевании (ОРВИ, артериальная гипертензия и др.) продолжают работать и не предпринимают каких-либо усилий для коррекции своего состояния 9,8% врачей, пользуются средствами народной медицины 15,5%, занимаются самолечением 52% и 22,7% обращаются за помощью к своим коллегам (врачам).

В порядке планового и диспансерного обследования у большей части анкетированных (85%) в течение последнего года проводились следующие лабораторно-инструментальные исследования: определение гемограммы (80%), анализ мочи (70%), исследование уровня глюкозы в крови (55%), запись электрокардиограммы (60%).

Особо хотелось бы подчеркнуть, что субъективная оценка здоровья включает также и такой показатель, как усталость на рабочем месте врача. Ее испытывают 86 % респондентов и лишь 14% ощущают ее очень редко. В качестве причины возникновения повышенной усталости называлось высокое эмоциональное напряжение, связанное с большой рабочей нагрузкой и неадекватными условиями труда. Постоянная усталость со временем порождает стресс. Количество женщин - врачей с высоким уровнем профессионального стресса в 1,5 раза превышает количество мужчин с аналогичными показателями.

В качестве причин, заставляющих медицинских работников проявить заботу о своем здоровье, указаны:

- неоднократные острые заболевания – у 15,5%,
- переход острой формы заболевания в хроническую – у 45%,
- негативный опыт близких людей – у 25%,
- забота о здоровье была привита с детства, в семье – у 14,5%.

Литература:

1. Головской, В.А. Методические рекомендации по гигиене труда и охране здоровья медицинских работников / В.А. Головской, В.А. Канцов, Г.И. Куценко. – Москва.- 1987.- 45с.

THE ANALYZE OF MEDICAL STAFF'S HEALTH IN HEALTH ORGANIZATIONS OF GRODNO REGION

Siniak V.G.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Health plays an important role in life of each person, and doctors as well. But doctors tend to experience psycho-emotional stress due to a big load on health personnel and inadequate working conditions. And this can be named as one of the main reasons for a higher fatigue and chronicle diseases in this profession.

БРАССИНОСТЕРОИДЫ КАК НОВЫЙ КЛАСС СОЕДИНЕНИЙ С АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Сыса А.Г., Киселев П.А., Жабинский В.Н., Хрипач В.А.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Браassinостероиды – класс фитогормонов со стероидной структурой, которые обладаютразностороннейбиологическойактивностью. В растениях браassinостероиды играют существенную роль в регуляции роста и дифференцировки клеток, влияют на протекание метаболических процессов. В то же время их потенциальная роль в регуляции важнейших биохимических процессов человека и животных практически не изучена. Поэтому установление молекулярных механизмов физиологического действия браassinостероидов, а также выявление взаимосвязи структура-функция в отношении браassinостероидов у человека и животных имеет важное фундаментальное и практическое значение.

В последнее время появились сообщения об антипролиферативной и потенциальной антиканцерогенной активности браassinостероидов, проявляемой на фоне их очень низкой токсичности. Целью настоящей работы стало выяснение возможных корреляций между структурой браassinостероидов и предполагаемой антипролиферативной активностью в отношении раковых клеток молочной железы. Для достижения поставленной цели использовали гормон-чувствительные клетки аденокарциномы молочной железы (MCF-7) и синтезированные стероидные соединения: 28-гомобрассинолид [1], 24-эпибрассинолид [2], (22S,23S)-28-гомобрассинолид [3], (22S,23S)-24-эпибрассинолид [4], 28-гомокастастерон [5] и 24-эпикастастерон [6].

Использованные соединения [1–4] содержали 6-оксо-7-оксалактонную структуру в кольце В стероидного скелета, а соединения [5, 6] – 6-кетофункцию. Кроме того, браassinостероиды отличались строением боковой цепи. Так, природный 24-эпибрассинолид и 24-эпикастастерон содержат в положении C24 метильную группу, в то время как у 28-гомобрассинолида и 28-гомокастастерона в этом положении находится этильный заместитель. Отличительная особенность синтетических производных 28-гомобрассинолида и 24-эпибрассинолида заключалась в S-конфигурации 22 и 23 атомов углерода, содержащих гидроксильные группы.

Показано, что в целом, соединения с 6-кетофункцией в кольце В являются более активными в подавлении клеточной пролиферации, чем соединения с 6-оксо-7-оксалактонной функцией. Так, IC_{50} для 28-гомокастастерона и 4-эпикастастерона составили 45 мкМ и 100 мкМ соответственно. IC_{50} (22S,23S)-28-гомобрассинолида оказалась в 5 раз меньше аналогичного значения для (22R,23R)-изомера и составила 80 мкМ.

Известно, что один из путей инициирования и развития рака молочной железы связан с метаболической активацией проканцерогенных веществ экзогенного и эндогенного происхождения, реализуемой цитохром P-450-зависимыми ферментными системами. Поэтому дополнительной целью настоящей работы стала характеристика влияния браassinостероидов на протекание монооксигеназных процессов. В результате обнаружено, что браassinостероиды могут оказывать прямое воздействие на монооксигеназные реакции, эффективность которого зависит от структуры стероидной молекулы.

В целом, полученные данные указывают на наличие взаимосвязи между структурой brassinosterоидов и их способностью влиять на пролиферацию клеток и протекающие в них метаболические процессы, что, в свою очередь позволяет вести направленный поиск соединений в ряду brassinosterоидов, способных стать действующими компонентами новых поколений противоопухолевых препаратов.

BRASSINOSTEROIDS AS A NEW CLASS OF SUBSTANCES WITH ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY

Sysa A.G., Kisselev P.A., Zhabinskii V.N., Khripach V.A.

Institute of Bioorganic Chemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The correlation between structure of brassinosterоids and their potential assumed antiproliferative activity concerning cancer of a mammary gland is studied. A number of brassinosterоids with R - and a S-configuration of atoms of carbon in a lateral chain is used. Detection of chemicals among brassinosterоids, possessing antiproliferative activity and capable to become operating components of new generations of prophylactics is expected.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ОКИСИ АЗОТА И ЕЕ МЕТАБОЛИТОВ В МЕДИЦИНЕ И СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

¹Титов В.Ю., ²Петренко Ю.М.

¹Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, Сергиев Посад, Россия;

²Российский Государственный Медицинский Университет, Москва, Россия

Оксид азота (NO) продуцируется в организме животных и человека из L-аргинина под воздействием фермента NO-синтазы. Ее эффекты, опосредующие деятельность парасимпатической нервной системы, тонус гладкой мускулатуры, дифференциацию тканей и апоптоз, а также некоторые ее центральные эффекты (антистрессовый), участие в регуляции экспрессии ряда генов, безусловно, представляют интерес, как для медицины, так и для животноводства. Возможно, здесь мы имеем колоссальный потенциал регуляции физиологических процессов. Оксид азота в водной среде, содержащей кислород, является короткоживущим соединением с временем полужизни от долей секунды до нескольких секунд. Считается, что физиологические эффекты оксида азота опосредуются рядом нитрозо- и нитро-соединений, являющихся метаболитами NO и выполняющих функцию ее физиологического депо. Это, прежде всего, S-нитрозотиолы (RSNO). Последние под воздействием закисного железа продуцируют динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), которые также считаются донорами NO. В последнее время считается, что некоторые высокомолекулярные нитросоединения (RNO₂) также могут выступать как депо NO, образуя под воздействием закисного железа и восстановителей нитрозильные комплексы железа [1].

Но в то же время неясны следующие вопросы. Первый – каким образом эти со-

единения могут высвободить окись азота в нужном месте и в нужное время. Соединения эти сравнительно стабильны. По-видимому, должны быть какие-то факторы, регулирующие их активность как доноров NO. Вторая проблема – защита от токсического воздействия метаболитов NO. В водной среде NO быстро окисляется до токсичного нитрита. По-видимому, должен существовать механизм, минимизирующий этот путь метаболизма окиси азота.

Ограниченность знаний о механизме непосредственных эффектов NO и о ее метаболизме в организме сдерживает возможности практического использования окиси азота и ее доноров, а также использование показателя содержания метаболитов NO в диагностических и прогностических целях. Одной из важнейших причин, ограничивающих возможности выяснения роли метаболитов NO в конкретных физиологических процессах, является трудность их количественного определения и, особенно, количественного анализа их состава. Методы, основанные на непосредственной детекции выделяющейся NO (использование спиновых, хемилюминесцентных, флуоресцентных ловушек), лишены специфичности. Недостаточна специфичность и у методов обнаружения отдельных нитро- и нитрозосоединений, поскольку совершенствуются методы очистки и выделения, а идентификация по-прежнему базируется на реакциях, основанных на взаимодействии со специфическими реагентами в кислой среде (пример – классическая реакция Грисса). Их недостатки известны и описаны в научной литературе: неконтролируемая трансформация исследуемого соединения в кислой среде, приводящая к артефактам [2].

Нами совместно с Институтом Химической Физики РАН (лаборатория проф. Ванина А.Ф.) разработан ферментативный сенсор, основанный на установленной ранее способности нитрозо-соединений ингибировать фермент каталазу в присутствии галлоид-ионов. Содержание ДНКЖ определяли, используя его свойство терять способность ингибировать каталазу при добавлении в реакционную среду ловушки NO и хелатора железа. S-нитрозотиолы (RSNO) определялись как соединения, способные продуцировать ДНКЖ под воздействием закисного железа. Нитриты – по разнице между общим пулом нитрозо-соединений и суммарным содержанием ДНКЖ и RSNO. Общее содержание нитро-соединений определялось путем восстановления хлоридом ванадия (III) до нитрозо-соединений и определения как последних. Нитро-соединения – доноры NO (RNO_2) определялись как вещества, приобретающие свойства ДНКЖ в присутствии закисного железа и тиолов. Нитраты – по разнице между общим пулом нитро-соединений и RNO_2 .

Чувствительность метода, основанного на таком принципе, – до 50 нМ. То есть он более, чем на порядок превосходит по чувствительности классические методы, основанные на реакции Грисса, но, в отличие от них, не нуждается в предварительной очистке и подготовке образца. Этот метод дает возможность делать экспресс-анализ состава метаболитов NO в биологических тканях, а также наблюдать качественное и количественное изменение их состава в ходе физиологических процессов [2].

Нами установлено, что в молоке, как коровьем, так и женском, нитрит в норме содержится в следовых количествах. Однако при маститах нитрит появляется, по-видимому, как продукт деструкции RSNO под воздействием кислородных радикалов, поскольку пул S-нитрозотиолов снижается пропорционально увеличению содержания

нитрита. Появление в молоке нитрита – показатель воспаления, превосходящий по чувствительности такие показатели, как содержание соматических клеток и нуклеиновых кислот.

В норме коровье молоко содержит до десяти мкМоль RSNO, а женское – десятки мкМоль этих важнейших соединений – депо NO. Присутствие RSNO в такой концентрации не может не иметь физиологического значения – влияние на тонус гладкой мускулатуры кишечника новорожденного, секрецию пищеварительных желез, бактерицидный эффект. Но в искусственных заменителях молока нитрозотиолы отсутствуют. Выявление всех факторов, определяющих эффективность и избирательность действия нитрозотиолов, как доноров NO, а также предотвращающих образование нитрита, позволит использовать этот важнейший компонент в молочных смесях.

Известно, что эмбриогенез сопровождается интенсивной продукцией окиси азота и ее метаболитов. Но конкретная роль окиси азота в эмбриогенезе пока неясна. На эмбрионах птиц установлено, что состав нитро- и нитрозо-соединений в различных частях эмбриона неодинаков. Так, амнион – среда, в которой непосредственно развивается зародыш, богата соединениями – донорами NO, но практически не содержит нитрит и нитрат. Последний накапливается в аллантаоисе по мере развития эмбриона. Состав нитро- и нитрозо-соединений в амниотической жидкости и аллантаоисе значительно различается у быстро- и медленно растущих форм одного и того же вида. Разница по содержанию ряда соединений – более чем на порядок. Установлено, что причина этого различия – не различная интенсивность продукции NO, а различный характер ее метаболизма. Это дает возможность использовать показатели содержания метаболитов NO в амнионе и аллантаоисе для селекции, особенно на начальном ее этапе [3]. Ответ на вопрос о возможности активного изменения содержания доноров NO в различных отделах эмбриона для коррекции его развития связан с выяснением конкретной роли окиси азота и ее метаболитов в эмбриогенезе.

Литература:

1. Severina, I., Bussygina, O., Pyatakova, N., Malenkova, I. and Vanin, A. (2003) Activation of soluble guanylate cyclase by NO donors - S-nitrosothiols, and dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands. *Nitric Oxide*, 8: 155-163.
2. Titov, V., Petrenko, Y. and Vanin A. (2008) Mechanism of inhibition of catalase by nitro and nitroso compounds. *Biochemistry (Moscow)*, 73: 92-96.
3. Titov, V.Yu., Vinnikova, E.Z., Fisinin, V.I., Bliznetsova, G.N. and Retskii M.I. (2008) Significance of Nitrogen Oxide and Its Metabolites in the Development of Embryos. *Russian agric. Sci.*, 34: 264-265.

POSSIBILITY OF NITRIC OXIDE AND ITS METABOLITES PRACTICAL USE IN MEDICINE AND AGRICULTURE

¹Titov V.Yu., ²Petrenko Yu.M.

¹All-Russian Scientific Research and Technological Poultry, Sergiev Posad, Russia;

²Russian State Medical University, Moscow, Russia

Nitric oxide (NO) and its physiological storage pool presented by S-nitrosothiols (RSNO), dinitrosyl-iron complexes (DNIC) and some nitro-compounds (RNO₂) possess multiple physiological effect on smooth muscle tonus, tissues differentiation, apoptosis, immunological status. Therefore these substances can be used as effective regulators of different physiological processes. But difficultness of the analysis of NO metabolites content in biological objects is the most reason restrict the ability to clarify their role in concrete physiological processes and therefore their practical use. The new enzymatic method developed by use make possible to distinguish basic groups of nitro- and nitroso-compounds, to estimate their quantity in biological objects and their transformation in biological processes. It was established that milk normally contain RSNO (several μM - in cow milk and several tens of μM - in human milk) and trace amount of nitrite. Presence of NO donors in such high concentration probably have physiological significance. Clarification of the mechanism of these substance effects should give the possibility for their using as components of baby mixes.

It was established that amniotic fluid of bird embryo contain trace amount of nitrate and nitrite but high concentration of RSNO, DNIC and RNO₂ (up to several millimole). Nitrate cumulate in allantois in course of the embryo development. As we propose, it is some mechanism preventing the cummulation of toxic nitrate and nitrite in amnion. The content of NO metabolites of amnion and allantois is very different in species with high and low rate of weight gain after hatching. The value of the difference can be more than one order of magnitude. Therefore we can use the indices of NO metabolites content in amnion and allantois for selection. We propose that active changing of NO-donors content in embryo for regulation of its development shall be possible after more detail clarification of NO role in embryogenesis.

АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ WIN 55,212-2 И AM 1241 В ТЕСТЕ «ОТДЕРГИВАНИЯ ХВОСТА» НА МЫШАХ

Тромза В.Е.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Целью исследования являлось изучение эффективности анальгезии у мышей при применении неселективного агониста каннабиноидных рецепторов WIN 55,212-2 и селективного агониста CB2 рецепторов AM 1241.

Анальгетическую активность исследуемых субстанций изучали на мышах линии СВА массой 18–24 г при внутрибрюшинном способе введения.

Животные содержались в условиях вивария с системой автоматической 12-часовой смены освещения и неограниченным доступом к воде и корму. Каждое животное использовалось только один раз и получало только одну дозу испытуемого

образца перед тестированием.

WIN 55,212-2 (*Sigma-Aldrich*) и селективный антагонист СВ1 рецепторов АМ 251(*Sigma-Aldrich*) растворяли в системе диметилсульфоксид - ТВИН-80 – физ. раствор (1:1:18) и вводили животным внутривентриально в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела. АМ 1241 (*Sigma-Aldrich*) растворяли в системе диметилсульфоксид - ТВИН-80 – физ. раствор (2:1:17) и вводили животным внутривентриально в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела.

WIN 55,212-2 вводили в дозах 1,25; 1,50; 2,00; 2,25; 2,50; 2,75; 3,00 мг/кг.

АМ 1241 вводили в дозах 5,0 и 10,0 мг/кг.

В опытах с АМ 251 каждому животному производили введение двух растворов с интервалом 60 мин. Животные делились на 4 группы в зависимости от комбинации вводимых растворов: контроль+контроль, контроль+WIN 55,212-2 (2,5 мг/кг), АМ 251 (3,0 мг/кг)+контроль, АМ 251 (3,0 мг/кг)+WIN 55,212-2 (2,5 мг/кг).

Животные контрольных групп получали растворитель.

Антиноцицептивный эффект определяли, регистрируя латентный период болевой реакции животного, проявляющейся отдергиванием хвоста в ответ на термическое раздражение сфокусированным тепловым пучком [1]. Для этого использовался автоматизированный анальгезиметр (*Tail-Flick Analgesia Meter; Columbus Instruments, США*). Максимальное время воздействия составляло 8,5 с.

Латентный период болевой реакции животных регистрировали до введения субстанции и через 15 мин, 30 мин, 45 мин, 60 мин, 90 мин и 120 мин после введения (в экспериментах с АМ 251 – через 15 мин, 45 мин и 90 мин после введения второго раствора).

Кривые доза-эффект были получены после предварительного выражения анальгетического эффекта в процентах от максимально возможного (МВЭ).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента по алгоритмам пакета «Анализ данных» табличного процессора MS Excel 2007.

Для расчета ED_{50} использовали метод прямой оптимизации функции максимального правдоподобия с использованием пробит-анализа [2].

Внутривентриальное введение WIN 55,212-2 в дозах 1,50-3,00 мг/кг вызывало выраженное дозозависимое увеличение латентного периода отдергивания хвоста у мышей. Максимальный эффект регистрировался через 15 мин после введения, после чего постепенно снижался. Статистически значимые различия между результатами опытных и контрольных групп регистрировались в течение двух часов после введения. Так, в группе, получавшей максимальную дозу WIN 55,212-2 (3,00 мг/кг), через 15 и 120 мин после введения эффект составил $93,2 \pm 6,8\%$ и $43,2 \pm 14,0\%$ от МВЭ соответственно.

Величина ED_{50} для WIN 55,212-2 через 15 мин. после введения составила $1,65 (1,26 \div 1,90)$ мг/кг.

АМ 251 в дозе 3,0 мг/кг полностью блокировал развитие анальгетического эффекта WIN 55,212-2 (2,5 мг/кг), однако сам никак не влиял на болевое поведение животных.

Внутривентриальное введение АМ 1241 в дозах 5,0 и 10,0 мг/кг не вызывало выраженного увеличения латентного периода отдергивания хвоста у мышей.

Полученные результаты подтверждают имеющиеся в литературе данные о том,

что каннабиноидэргическая система участвует в процессе восприятия боли [3].

В модели острой боли (тест отдергивания хвоста) селективный агонист CB2 рецепторов оказался неэффективным. На основании этого можно сделать вывод, что высокая эффективность в том же тесте неселективного агониста WIN 55,212-2 связана с активацией в первую очередь CB1 рецепторов, что подтверждают результаты экспериментов с антагонистом CB1 рецепторов AM 251.

Литература:

1. D'Amour, F.E., Smith, D.L. A method for determining loss of pain sensation./ F.E. D'Amour, D.L. Smith//Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics.-1941 - №72 - P. 74–79.
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь/Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. Г.В. Годовальникова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии, 2006 – С. 496–501.
3. Hohmann, A. G. Spinal and peripheral mechanisms of cannabinoid antinociception: behavioral, neurophysiological and neuroanatomical perspectives./ A. G. Hohmann// Chemistry and Physics of Lipids – 2002 - №121 – P. 173–190.

ANALGESIC ACTION OF WIN 55,212-2 AND AM 1241 IN TAIL-FLICK EXPERIMENTS ON MICE

Tromza V. E.

Institute of Pharmacology and Biochemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

It was studied the analgesic effect of nonselective agonist of CB receptors WIN 55,212-2 and selective agonist of CB2 receptors in Tail-Flick experiment on CBA mice. Our data have revealed that, administered intraperitoneal, WIN 55,212-2 (1,50–3,00 mg/kg) produced dosedependent antinociception in the tail-flick test, yielding an ED₅₀ value of 1,65 mg/kg (95% CI, 1,26–1,90). In contrast, the selective CB2 agonist AM 1241 did not produced any effects in the same test. The CB1 receptor antagonist AM 251 (3.0 mg/kg) prevented the antinociceptive effects of WIN 55,212-2 (2.5 mg/kg) over the 90 min investigation period.

МОРФОЛОГИЯ И ФУНКЦИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ГИПЕРКОРТИЦИЗМЕ

Туманов А.В., Гольшко П.В., Виноградов В.В.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродненский филиал, Гродно, Беларусь

Давно известно, что фармакологические дозы кортизона (соединение Е), гидрокортизона (соединение F) и кортикостерона (соединение В) угнетают потребление и секрецию щитовидной железой радиоактивного йода [1]. Однако механизм, посредством которого экзогенные глюкокортикостероиды снижают синтез

йодтиронинов, еще до конца не ясен.

В основном здесь существуют следующие возможности: 1) что эти лиганды прямо ингибируют гормонообразовательную функцию щитовидной железы; 2) что эти соединения угнетают секрецию тиреотропного гормона гипофиза; 3) что они блокируют влияние ТТГ на железу-мишень; 4) что они снижают циркуляторный уровень трийодтиронина за счет подавления метаболическое превращение T_4 в T_3 и повышения степени его внутриклеточного распределения и почечного клиренса [2]. Вместе с тем было показано, что у крыс глюкокортикоиды, по всей вероятности, прямо не влияют на тироксиногенез, а тормозят секрецию гипофизом тиреотропина, ибо эти стероиды не блокируют действие экзогенного ТТГ на щитовидную железу (судя по ее гистологии, способности накапливать радиоактивный йод или секретировать гормоны) [3].

Исходя из того, что любые изменения функции эндокринной железы обусловлены изменением морфологии ее секреторных элементов, было интересно выяснить как повлияют на морфофункциональную активность щитовидной железы экзогенные глюкокортикоиды.

Мы использовали для внутрибрюшного введения крысам-самкам массой 150–180 г «короткодействующий» гидрокортизон (фирмы «Гедеон Рихтер») в дозе 10 мг/100 г, который угнетает активность АКТГ до 24-36 ч.

«Быстрые» - цАМФ-зависимые эффекты глюкокортикоидов с уровня клеточных рецепторов исследовали через 5-15-30-45-60 мин после разовой гормональной нагрузки. «Медленные» - геном-зависимые эффекты стероидов с уровня цитоплазматических рецепторов, для которых требуется активация генетического аппарата с лаг-периодом до 30-60 мин, а иногда и более, исследовали через 24–48 часов после однократного введения гидрокортизона. А эффекты длительной гормональной блокады кортикотропной и тиреотропной функции гипофиза экзогенным кортикостероидом, которая приводит к функциональной атрофии секреторных клеток коркового и мозгового вещества надпочечников (снижение продукции кортикостерона и сопряженной с ним продукции катехоламинов), а также щитовидной железы (снижение новообразования йодтиронинов) исследовали через 7 суток после ежедневных инъекций.

В плазме крови определяли концентрацию тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3) с помощью иммуноферментных наборов (K211 и K212 фирмы «Хема-Медика», Москва). Ткань щитовидной железы контрольных и опытных животных фиксировали глютаровым альдегидом и четырёхокисью осмия и заливали в смесь метилового и бутилового метакрилатов. Серийные полутонкие срезы толщиной 0,5–1,0 мкм окрашивали смесью красителей – азур II и основным фуксином. Окрашенные препараты изучали методом световой микроскопии и фотографировали цифровой фотокамерой Canon Power Shot A710.

Активность тиреопероксидазы определяли в гомогенате ткани щитовидной железы спектрофотометрическим методом по окислению йодида. Весь полученный цифровой материал обрабатывался методами параметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows.

Показано, что снижение уровня йодтиронинов в крови крыс во все сроки опыта после однократного введения гидрокортизона не сопровождается сдвигами морфологии тироцитов и активности в них тиреопероксидазы (ТПО) – ключевого

фермента тироксина, что может указывать на экстрагипофизарный механизм ингибирования, реализующийся через стероидзависимое угнетение продукции гипофизарного тиреотропина.

Падение концентрации тироксина в крови крыс при 7-дневном гиперкортицизме на фоне уменьшения струмогенной активности ТПО очевидно связано с сокращением количества секреторных элементов в эндокринной паренхиме щитовидной железы, за счет соматотропной или инсулинзависимой трансформации обычных тироцитов в нефункционирующие «светлые» клетки.

Литература:

1. Brown-Grant K. // J. Physiol. 1956. Vol. 31. P. 58-69.
2. Duick D., Warren D., Niciloff J. // J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1974. Vol. 39. P. 1151-1155.
3. Barker S. B. // Ann. Rev. Physiol. 1955. Vol. 17, P. 417-421.

MORPHOLOGY AND THYROID FUNCTION IN HYPERCORTICOIDISM

Tumanov A.V., Golyshko P.V., Vinogradov V.V.

*Institute of Pharmacology and Biochemistry of NAS of Belarus, Grodno Branch,
Grodno, Belarus*

The functional activity and morphology of the rat thyroid were studied after 5-15-30-45- 60 min and 24-48 hours following the single intraperitoneal injection as well as after 7 days following the daily administration of cortisol at a dose of 10 mg/100 g body weight.

The decreased levels of rat blood iodothyronines observed within the first 60 min of the experiment are not accompanied by altered thyrocyte morphology and activity of thyroperoxidase (TPO), the key enzyme of thyroxinogenesis, which may indicate an extrathyroid inhibitory mechanism realized through steroid-dependent suppression of hypophysial thyrotrophin.

The decreased rat blood thyroxin concentration in 7-day hypercorticism along with the diminished goitrogenic activity of TPO may be related to a reduced amount of secretory elements in the endocrine parenchyma due to either somatotrophic or insulin-dependent transformation of conventional thyrocytes to non-functioning "light" cells.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И АПОПТОЗА В ЛЕЙКОЗНЫХ БЛАСТАХ ДО И ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИОПРЕПАРАТА *IN VITRO*

Федосенко В.В., Шман Т.В., Савицкий В.П.

РНПЦ детской онкологии и гематологии, Минск, Беларусь

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) признана одним из основных препятствий успешной терапии острых лейкозов у детей. Фенотип МЛУ часто является следствием гиперэкспрессии генов и белков, ассоциированных с МЛУ, а также генов и белков апоптоза [1]. Целью данной работы было изучение изменения экспрессии

генов *MDR1*, *LRP*, *BCRP*, *Bcl-2* и *CASP8AP2* с помощью метода относительной количественной ПЦР до и после воздействия химиопрепарата *in vitro*.

В работу включено 10 пациентов в возрасте от 0 до 18 лет с диагнозом острый лейкоз.

Мононуклеарные клетки выделяли при помощи центрифугирования образца костного мозга на градиенте плотности Histopaque-1077. Далее, для исключения примеси лейкоцитов, популяцию лейкозных бластов выделяли с помощью сортировки на аппарате FACS Vantage SE (BD) по экспрессии антигена CD45, мертвые клетки исключали по накоплению пропидиум иодида.

Лейкозные бласты культивировали в полной питательной среде RPMI-1640 с добавлением дексаметазона (2 мкг/мл) в течение 48 часов. Выжившую популяцию лейкозных бластов выделяли с помощью сортировки на аппарате FACS Vantage SE (BD).

Экстракцию тотальной РНК из лейкозных бластов до и после культивирования с химиопрепаратом проводили с использованием коммерческого набора Gen Elute Mammalian Total RNA Miniprep Kit (Sigma). Количество и качество выделенной РНК определяли с помощью спектрофотометра Gene Quant RNA/DNA Calculator (GE Healthcare). Реакцию обратной транскрипции выполняли немедленно после выделения РНК с помощью набора для синтеза кДНК Advantage RT-for-PCR Kit (BD) согласно протоколу изготовителя.

Уровень экспрессии генов определялся методом относительной количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на аппарате iCycler (BioRad). Для расчета относительного количества РНК исследуемых генов использовался метод стандартных разведений. Лимфобластоидная клеточная линия IM9, экспрессирующая все исследуемые гены, была использована в качестве калибратора. Для нормализации количества кДНК, вносимой в реакцию, использовался контрольный ген β -глюкуронидазы (*GUS*) [2]. Калибрационные кривые в каждой реакции для исследуемого и контрольного гена строились по трем-четырем 10-кратным разведениям кДНК, полученной из клеточной линии IM9. Амплификация проводилась в конечном объеме реакционной смеси, равном 25 мкл, содержащем кДНК, Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG (Invitrogene, конечная концентрация $MgCl_2$ была повышена до 4мМ), 300 нМ каждого из праймеров и 200 нМ TaqMan пробы. Последовательности праймеров и проб для исследуемых генов получены из базы данных о праймерах и пробах в сети Интернет [3].

Для оценки достоверности различий был использован непараметрический метод парных сравнений Wilcoxon Matched Pairs Test и программное обеспечение Статистика 6.0.

ПЦР анализ лейкозных клеток до и после культивирования с химиопрепаратом показал изменения в экспрессии некоторых генов (Таблица 1).

Наиболее значительные изменения были обнаружены для гена *MDR1*. Экспрессия гена *MDR1* была определена для 8 пар образцов клеток, из которых в 7 случаях экспрессия гена *MDR1* была значительно выше после культивирования с дексаметазоном и в одном случае незначительно снизилась ($P < 0,05$).

Экспрессия генов *LRP* и *BCRP* в лейкозных бластах до и после культивирования с химиопрепаратом различалась незначительно ($P > 0,05$).

Экспрессия генов *Bcl-2* и *CASP8AP2* достоверно различалась в бластах,

подвергавшихся и не подвергавшихся воздействию дексаметазона ($P < 0,05$). Так, в 8 из 10 случаев экспрессия анти-апоптотического гена *Bcl-2* повышалась после культивирования с дексаметазоном. Экспрессия гена *CASP8AP2*, кодирующего соответствующий протеин, участвующий в Fas-зависимом пути апоптоза, напротив, в 8 из 10 случаев была снижена после воздействия химиопрепарата.

Таблица 1. Относительная экспрессия генов *MDR1*, *LRP*, *BCRP*, *Bcl-2* и *CASP8AP2* в лейкозных бластах до и после инкубирования с дексаметазоном.

N	<i>MDR1</i> *		<i>LRP</i>		<i>BCRP</i>		<i>Bcl-2</i> *		<i>CASP8AP2</i> *	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	845,70	3730,34	1057,8	1316,8	28041,5	60674,1	3160,2	3011,2	3827,8	2157,3
2	2,49	323,97	3038,1	1465,7	34571,4	8493,1	3066,6	6575,3	3209,5	1506,8
3	ND		1893,0	2229,6	556358,3	277511,9	1618,5	1906,7	1835,2	1533,4
4	0,40	137,25	1247,1	665,6	273242,6	15419,8	1768,7	2839,6	1995,4	483,9
5	0,10	5,01	609,9	1131,3	ND		532,2	102,9	1891,5	607,3
6	1,32	24,75	5801,1	2432,2	52,2	51186,4	294,1	478,8	404,0	505,0
7	11,86	11,21	1274,7	1528,7	122525,6	32659,4	699,6	832,0	1247,4	928,4
8	15,65	10876,71	1167,7	2208,2	15244,1	7506,8	1405,5	4109,5	806,7	654,7
9	ND		971,2	2164,6	ND		522,3	45548,7	1136,6	1091,4
10	5,58	63,73	1984,8	6424,8	11833,6	10518,1	1514,1	2378,2	1780,7	2295,3

Примечания: Экспрессия исследуемых генов выражена в условных единицах.

1 – Экспрессия исследуемого гена в бластах до инкубирования с дексаметазоном.

2 - Экспрессия исследуемого гена в бластах после инкубирования с дексаметазоном.

* - Различия достоверны ($P < 0,05$, Wilcoxon Matched Pairs Test).

Таким образом, лейкозные клетки детей с диагнозом острый лейкоз, выжившие после инкубирования с химиопрепаратом *in vitro*, характеризовались повышенной экспрессией генов *MDR1*, *Bcl-2* и сниженной экспрессией гена *CASP8AP2* по сравнению с клетками, не подвергавшимися воздействию химиопрепарата.

Литература:

1. Prognostic significance of multidrug resistance-related proteins in childhood acute lymphoblastic leukemia / Swerts K., De Moerloose B., Dhooze C. // European Journal of Cancer, 2006, 42, – С. 295-309.

2. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using ‘real-time’ quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) – a Europe against cancer program / Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden V // Leukemia, 2003; 17, – С. 2474-2486.

3. <http://medgen.ugent.be/rtrprimerdb> / Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Belgium.

EXPRESSION OF MULTIDRUG RESISTANCE AND APOPTOSIS GENES IN LEUKEMIC CELLS BEFORE AND AFTER INCUBATION WITH ANTI-CANCER DRUG IN VITRO

Fedasenka U.U., Shman T.V., Savitski V.P.

BRCPOH, Minsk, Belarus

In the present work we studied relative expression levels of *MDR1*, *LRP*, *BCRP*, *Bcl-2* and *CASP8AP2* in leukemic cells before and after 48 hour incubation in presence of dexamethasone in vitro. Leukemic cells of 10 children diagnosed with acute leukemia were extracted from bone marrow samples and purified using flow cytometry. Relative quantitative PCR showed that leukemic cells that survived incubation in presence of anti-cancer agent expressed *MDR1*, *Bcl-2* genes at higher levels and *CASP8AP2* gene at lower levels than cells not exposed to the anti-cancer drug. Expression levels of *LRP* and *BCRP* genes remained relatively unchanged.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В МОЗГЕ КРЫС

Фоменко О.З., Ушакова Г.А.

Днепропетровский национальный университет им. О. Гончара,

Днепропетровск, Украина

Количество людей, страдающих болезнями печени, за последние годы сильно возросло. При болезнях печени наблюдаются существенные нарушения в работе головного мозга, развивается печеночная энцефалопатия (ПЭ). При развитии ПЭ эффект действия нейротоксинов направлен в первую очередь на астроглиальные клетки головного мозга. В них наряду с морфологическими изменениями – перерождением в клетки Альцгеймера II типа – происходит (под действием длительной токсикации короткоцепочечными жирными кислотами, аммиаком, марганцем и ГАМК) функциональная перегрузка. Таким образом, астроциты не могут должным образом обеспечивать элиминацию нейромедиаторов и астроцит-нейронную коммуникацию.

Состояние астроглии ЦНС можно оценивать по уровню S-100b – кальций-связывающего белка, принимающего участие в ингибировании фосфорилирования белков, регуляции ферментативной активности и модификации цитоскелета клеток.

ПЭ приводит к нарушению когнитивной функции головного мозга и состояния памяти. Оценка этих процессов возможна с помощью определения изменений концентрации молекул нейрональной клеточной адгезии (МНКА). Данные молекулы играют одну из ключевых ролей в процессах миграции клеток, роста нейритов, стабилизации межнейронных контактов, а также в процессах синаптической пластичности.

Одним из новых препаратов, который может применяться при лечении ПЭ, является цитофлавин – смесь янтарной кислоты, инозина и никотинамида. Это препарат, который улучшает мозговой метаболизм, утилизацию кислорода тканями головного мозга, стимулирует процессы клеточного дыхания и образования энергии, восстанавливает антиоксидантную активность. Цитофлавин активизирует

внутриклеточный синтез белка, способствует утилизации глюкозы, жирных кислот и ресинтезу ГАМК (гамма-аминомасляной кислоты) в нейронах через шунт Робертса.

Целью нашей работы было изучение изменений уровня S-100b и МНКА при моделировании хронического гепатита С и его лечения цитофлавином.

В работе использовались химически чистые реагенты MP Bio, Sigma, Serva, Ursosfalk (Pharma GMBH).

Развитие хронического гепатита С проводилось по следующей схеме: под кожу задней лапки крыс вводили четыреххлористый углерод (CCl_4) в дозе 0,25 мл 50 % раствора в рафинированном масле четырехкратно через каждые 5 дней, а после окончания – в корень хвоста крысам вводили полный адьювант Фрейнда в количестве 0,5 мл, который содержал 0,5 мг БЦЖ и 5 мг белка гомогената печени, через 8 дней вводили азатиоприн в дозе 50 мг/кг, еще через 7 дней – полный адьювант Фрейнда с гомогенатом печени 0,25 мл, через 5 дней вводили азатиоприн в дозе 50 мг/кг, через 4 дня – полный адьювант Фрейнда с гомогенатом печени 0,25 мл. В эксперименте использовали 18 крыс, которые были разделены на контрольную группу (n=6), группу, у которой вызывался ХГС (n=6), и группу, получавшую после развития ХГС лечение цитофлавином в дозе 0,5 мл/100 г массы тела животного (введение внутривентрикулярно) в течение 10 дней.

После создания модели животных декапитировали под слабым наркозом (изофуран). Из мозга выделяли два отдела: гиппокамп и мозжечок, которые в дальнейшем использовались для получения белковых фракций.

Гомогенизация ткани мозга проводилась в буфере А, содержащем трис-НСl – 25 мМ, рН 7,4, ЕДТА – 1 мМ, бета-меркаптоэтанол – 2 мМ, ФМСФ – 0,2 мМ, мертиолят – 0,01%, в соотношении 1:10. В ходе последовательных стадий центрифугирования были выделены фракции, которые содержали растворимые и мембранные (инкубация гомогената в буфере А, дополнительно содержащем тритон X-100 – 2%) белки. Последовательное центрифугирование проводили при 100000 g на протяжении 60 мин. Полученные фракции использовали для определения количества нейроспецифических белков.

Количество МНКА и S-100b определяли с помощью конкурентного ингибиторного метода ИФА. Статистические расчеты проводили в Excel согласно t-критерия Стьюдента.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень белка S-100b в мозжечке при развитии хронического гепатита С практически не изменился ($2,24 \pm 0,13$ мкг/мл в контрольной группе и $2,01 \pm 0,23$ мкг/мл в группе гепатита С), лечение же цитофлавином привело к резкому росту количества этого белка – до $6,48 \pm 0,6$ мкг/мл (почти в 3 раза).

В гиппокампе при моделировании гепатита С наблюдался рост количества S-100b на 83% (с $1,9 \pm 0,11$ мкг/мл до $3,49 \pm 0,24$ мкг/мл). После проведенного лечения количество белка снизилось на 35 % до значения $2,27 \pm 1,19$ мкг/мл.

Концентрация молекул НКА в растворимой фракции мозжечка при развитии хронического гепатита С увеличилась в 2,94 раза (с $1,81 \pm 0,17$ мкг/мл до $5,36 \pm 0,26$ мкг/мл), после проведенного лечения количество молекул приблизилось к нормальному значению ($1,8 \pm 0,12$ мкг/мл). В гиппокампе концентрация МНКА в группе гепатита С увеличилась в 2,47 раз (с $1,84 \pm 0,18$ мкг/мл до $4,57 \pm 0,39$ мкг/мл), и после проведенного лечения снизилась на 38% (до $2,85 \pm 0,18$ мкг/мл).

Концентрация молекул НКА в мембранной фракции мозжечка при развитии гепатита С увеличилась в 2,49 раза (с $38,99 \pm 5,98$ мкг/мл до $97,34 \pm 13,98$ мкг/мл), в гиппокампе – в 2,32 раза (с $50,16 \pm 4,09$ мкг/мл до $116,5 \pm 9,46$ мкг/мл), после проведенного лечения цитофлавином количество молекул снизилось только на 15% в мозжечке (до $82,33 \pm 33,16$ мкг/мл), в гиппокампе концентрация МНКА оставалась значительно увеличенной (в 3,29 раза) – до $165,13 \pm 038,63$ мкг/мл и после лечения.

Таким образом, развитие хронического гепатита С приводит к изменениям концентрации нейроспецифических белков (как S-100b, так и МНКА), что отражает картину общего поражения головного мозга крыс при печеночной энцефалопатии. Полученные результаты свидетельствуют о специфичности развития последствий хронического гепатита в разных отделах мозга, и специфичности эффекта действия цитофлавина. Тем не менее, лечение комплексным препаратом цитофлавином приводит к улучшению показателей концентрации нейроспецифических белков, имеются тенденции к их возвращению к контрольным нормальным значениям. Лечебный эффект быстрее проявляется в действии на водорастворимые цитозольные формы изучаемых белков, чем на их мембранные формы.

THE EFFECT OF THE CHRONIC HEPATITES C TO THE DISTRIBUTION OF NEUROSPECIFIC PROTEINS IN THE RAT BRAIN

Fomenko O.Z., Ushakova G.A.

Dnepropetrovsk National University named Oles` Gonchar, Dnepropetrovsk, Ukraine

The development of the experimental chronic hepatitis C in rats induce the elevation as soluble and membrane NCAM concentration in the cerebellum and hippocampus, and increasing S-100b protein in the hippocampus. The treatment by cytoflavin during 10 days leads to the stabilisation of the cytosolic neurospecific proteins much more than their membrane forms.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ ПАТОЛОГИИ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТАУ ДЕТЕЙ: ПРОБЛЕМЫ И ВОПРОСЫ

Харченко О.Ф., Хоха Р.Н., Каленкович М.Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Целью исследования явился анализ назначения антибиотиков (АБ) врачами стационара на базе Гродненской областной детской клинической больницы и двух городских детских поликлиник.

Проанализировано 134 истории стационарного больного и 100 амбулаторных карт.

Нами выявлены следующие закономерности:

1. Участковые педиатры (56%) и врачи стационара (37%) необоснованно часто назначают АБ в комплексной терапии острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ).

Наиболее частыми причинами этого были:

- неубедительные знания врачей этиологии ОРВИ (27%).
- настойчивость родителей и убежденность их в эффективности антибактериальной терапии (23%),
- недооценка нежелательных побочных эффектов (19%).

Участковые педиатры до сих пор в своей практике используют эритромицин, котримоксазол при лечении респираторных инфекций. Наиболее используемыми препаратами были амоксициллин, амоксициллин и клавуланат, азитромицин, кларитромицин. Редко по-прежнему используются пероральные цефалоспорины второго и третьего поколений. Однако следует отметить, что годовая антибиотическая нагрузка на одного ребенка за последние 8 лет уменьшилась с 2,1 препарата до 1,3.

2. Нерациональный выбор АБ при эмпирической терапии.

Так, большинство хирургов (81%) назначали при остром мезадените, осложненной форме острого аппендицита парентерально гентамицин. У длительно и часто болеющих детей при диагностировании пневмонии в 47,5% случаев стартовым АБ являлся цефазолин, что малоэффективно при наличии грамотрицательной и анаэробной флоры у данной категории больных.

Следует отметить малообъяснимую тенденцию возрастания частоты назначения при внебольничной неосложненной пневмонии цефалоспоринов третьего поколения в качестве стартового АБ (каждый 12 случай).

3. Нередки ошибки при смене АБ в случае неэффективности первоначально (15% врачей назначают антибиотик более высокого поколения в пределах одной группы).

4. Ошибки в режиме дозирования и длительности курса встречались соответственно в 8% и 12% случаев.

5. Много неточностей выявлено при комбинированном применении АБ (43%). Так, в 20% случаев больные с неосложненной пневмонией получали два АБ, причем в 7% это была комбинация препаратов с антагонистическим действием.

6. Необоснованно часто одновременно с АБ назначались противогрибковые препараты (14%) и пробиотики (39%), причем последние без учета устойчивости входящих в них штаммов к АБ.

7. Только 8% педиатров применяют в своей практике принцип «ступенчатой» терапии.

Результаты регулярно проводимого анализа обсуждаются на областных семинарах врачей-педиатров с целью улучшения знаний по данной проблеме.

ANTIBACTERIAL THERAPY OF THE RESPIRATORY DISEASES IN CHILDREN: PROBLEMS AND QUESTIONS

Kharchenko O.E., Khokha R.N., Kalenkovich M.N.
Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

The analysis of the antibiotics prescription by doctors of a Grodno children hospital and two city children out-patient clinics is carried out. Take place analyze of 134 inpatient cards and 100 out-patient cards. Results of such regularly spent analysis are discussing on regional pediatric seminars to improve knowledge as for it problem.

НЕЙРОГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ СРОЧНОЙ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА К ТЕСТОВЫМ НАГРУЗКАМ

¹Хорева С.А., ²Джураева Е.И., ³Лукиянова М.Г., ⁴Тавгень О.И.

¹Белорусский национальный технический университет, Минск, Беларусь;

²Сибирский медицинский университет, Томск, Россия;

³Юргинский технологический институт Томского политехнического университета, Юрга, Россия;

⁴Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова, Минск, Беларусь

Объектом наблюдения служили 59 здоровых мужчин в возрасте 22–29 лет. Медицинское обследование включало, кроме общепринятых клинических исследований, оценку состояния здоровья (рост, масса тела, окружность груди, спирометрия и вегетативная реактивность с помощью функциональных проб). По различиям показателей вегетативного тонуса, по функциональному состоянию сердечно-сосудистой системы и чувствительности организма к действию адренергических веществ испытуемые были условно разделены на 3 группы: I группа – с превалированием симпатического реагирования, II группа – смешанный тип, III группа – с преимуществом парасимпатического реагирования. Тестовыми факторами воздействия являлись:

1) «подъем» в условиях барокамеры на 3500 м при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ на 60 минут,

2) действие высоты 3500 м при температуре $40 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 180 минут,

3) велоэргометрическая нагрузка со скоростью 60 об/мин, мощность нагрузки 20–40 Вт (5 минут), 40–60 Вт (5 минут), 60–80 Вт (5 минут) с 5-минутными интервалами.

Активность гипофизарно-надпочечниковой системы оценивалась по содержанию кортикотропина, глюкокортикоидов и альдостерона в крови и слюне у людей радиоиммунологическими методами. Флюориметрическими методами в крови и моче оценивалась активность симпагоадреналовой системы (адреналин, норадреналин, дофамин); уровень ацетилхолина тестировали по Фюннеру; спектрофотометрическим способом определяли активность моноаминоксидаз в сыворотке крови и уровень 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУКС); уровень тиреотропного гормона (ТТГ), тетраидтиронина (T_4) и триодтиронина (T_3), инсулина и С-реактивного пептида – радиоиммунологическими методами.

Подъем на высоту 3500 м в условиях барокамеры приводит к снижению содержания адреналина, дофамина, кортизола, но к увеличению количества инсулина в крови. В моче возрастало содержание адреналина, но особенно увеличивалось содержание метаболита серотонина 5-ОИУК. У I группы людей, по сравнению с III группой, перегруппировка в спектре изучаемых катехоламинов происходит за счет возрастания дофамина в крови. Особенностью регуляции метаболизма при действии гипоксии у I группы, по сравнению с III группой людей, является увеличение содержания ТТГ в крови и нарастание содержания T_4 . В реакции на кратковременную гипоксию у людей с разным типом регулирования проявляется преимущество III группы, которая через эндогенный серотонин достигает компенсаторно-приспособительного эффекта и нормализует системный кровоток.

При действии высокой температуры и гипоксии показано, что для всех групп

людей характерно резкое повышение содержания кортизола и альдостерона в крови почти в два раза, что отражает специфическую реакцию организма, направленную на компенсацию водно-электролитного обмена и на нормализацию регуляции системы кровообращения. Разница в нейрогуморальной регуляции заключается в характере изменения норадреналина: тепловое воздействие приводит у лиц III группы к увеличению содержания норадреналина, тогда как у I группы лиц возрастает уровень адреналина и снижается содержание норадреналина. Различия в секреции катехоламинов при гипертермии объясняют устойчивость лиц с разным типом вегетативной регуляции. В группе лиц с преобладанием парасимпатического регулирования, вероятно, на уровне надпочечников за счет тирозингидроксилазы происходит коррекция поступающих нервных и гуморальных сигналов. При преимуществе холинэргического регулирования у III группы нарастает норадреналиновый синтез, что ведет к более адаптированному регулированию функций при гипертермии.

При высокой температуре у всех людей возрастает уровень минерал- и глюкокортикоидов, а также уровень T_4 в крови, что более всего способствует адекватному способу структурных межгормональных перестроек. Подкрепленная активацией норадреналина, гормональная регуляция процессов приспособления к гипертермии у III группы людей является наиболее надежной для сохранения гомеостаза. Совместное действие гипоксии и гипертермии, в отличие от раздельного воздействия, свидетельствует о менее напряженном процессе гормонального регулирования. Ослабляющий эффект двух воздействий наиболее выражен в изменении структурных корреляционных связей гормонов с показателями иммунитета. Так, при гипоксии усложнение структуры связей происходит за счет серотонина с функциональной активностью нейтрофилов, с лизоцимом слюны, с иммуноглобулином А слюны и иммуноглобулином сыворотки. Тироксин после действия гипоксии больше всего взаимосвязан с активностью нейтрофилов [1]. В условиях относительной нормы в организме проявляются отрицательные корреляционные связи ацетилхолина с показателями фагоцитарного блока, и, наоборот, положительные – связи адреналина. Установлена положительная связь ацетилхолина с уровнем иммуноглобулина G, а также связи дофамина и серотонина с фагоцитирующими клетками и В-лимфоцитами.

При гипертермии показано повышение активности сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов, индукторами, активности которых являются стероидные гормоны. Комбинированное действие гипоксии с гипертермией приводит к снижению числа корреляций, что свидетельствует о менее напряженном процессе управления при сочетанном действии гипоксии и гипертермии.

Таким образом, тип межсистемных связей и ответная реакция организма тесно связаны при тестовых нагрузках с типом вегетативного регулирования сердечно-сосудистой системы и исходным уровнем основных гормонов адаптации [2, 3]. Для людей с парасимпатотоническим типом срочная гормональная реакция на воздействие гипоксии, гипертермии и их сочетание характеризуется вовлечением в процесс инсулина и серотонина. Позволяя компенсировать кислородную недостаточность за счет перераспределения кровотока и перестроек в метаболизме, этот вариант связан с меньшими энергетическими затратами, поэтому рассматривается как оптимальный на данный период адаптации.

Литература:

1. Адаптационный синдром и иммунитет / Т.И. Коляда, Ю.Л. Волянский, Н.В. Васильев и др. – Х.: Основа, 1995. – 368 с.
2. Хорева С.А., Васильев Н.В. Характеристика напряженности нейрогуморального регулирования при физической нагрузке у собак // ДАН СССР. М. 1991. Т.318. №3. С. 757-759.
3. Хорева С.А., Медведев М.А. Нейрогуморальная регуляция процессов срочной адаптации организма // Изд-во Томского университета. Томск. 1993. С. 224.

NEUROHUMORAL REGULATION OF URGENT ADAPTATION PROCESSES OF ORGANISM TO TEST LOAD

¹*Khoreva S.A.*, ²*Dzyraeva E.I.*, ³*Lukyanova M.G.*, ⁴*Tavgen O.I.*

¹*Belorussian National Technical University, Minsk, Belarus;*

²*Syberian Medical University, Tomsk, Russia;*

³*Yurgin Technological Institute of Tomsk Polytechnic University, Yurga, Russia;*

⁴*International Sakharov Environmental University, Minsk, Belarus*

The type of intersystem connections and the organism's responding reaction are closely connected under test loads with the type of vegetative regulation of cardio-vascular system and the initial level of main adaptive hormones. The urgent hormonal reaction for people with parasympathomimetic type upon an influence of hypoxia, hyperthermia and their combination is characterized by the use of insulin and serotonin. to allow compensating the lack of oxygen at the expense of redistribution of blood flow and reorganizations in metabolism, this version allows lesser energy inputs, therefore is considered as optimum at this period of adaptation.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАЗЕР-ИНДУЦИРОВАННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ IN VIVO ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДИНАМИКИ НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОЛОН В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Церковский Д.А., Чалов В.Н., Истомин Ю.П.

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Беларусь

На сегодняшний день, несмотря на использование современных методов хирургии, лучевой и химиотерапии при лечении злокачественных новообразований головного мозга, результаты остаются неудовлетворительными [1]. Одним из перспективных методов лечения такого рода опухолей является фотодинамическая терапия (ФДТ) [2].

Эффективность ФДТ в большой степени зависит от оптимальности выбора интервала между введением фотосенсибилизатора и началом облучения, как правило, осуществляемом в момент достижения максимальной концентрации препарата в опухоли. В связи с наличием гематоэнцефалического барьера, ограничивающего

проникновение лекарственных средств непосредственно в опухолевые и здоровые ткани головного мозга, изучение кинетики накопления фотосенсибилизатора в тканях головного мозга приобретает особую важность.

В настоящее время стандартным методом исследования фармакокинетики является химическая экстракция препарата из тканей животного *post mortem* с последующим определением концентрации в экстракте. Метод не позволяет производить измерения *in vivo*, требует использования значительного количества лабораторных животных и больших затрат времени. Указанных недостатков лишен метод лазер-индуцированной флуоресцентной спектроскопии с использованием оптоволоконных спектроанализаторов.

Данная работа является пилотным исследованием возможностей изучения фармакокинетики отечественного фотосенсибилизатора Фотолон в тканях головного мозга крыс *in vivo* методом лазер-индуцированной флуоресцентной спектроскопии с целью разработки в дальнейшем эффективных протоколов фотодинамической терапии злокачественных опухолей головного мозга в клинике.

Препарат Фотолон вводили белым беспородным крысам внутривенно в дозе 1,0 мг/кг. Изменение содержания Фотолона в тканях головного мозга крыс оценивали по интенсивности флуоресценции, которую регистрировали с помощью лазерного оптоволоконного спектрального анализатора ЛЭСА-6 (ЗАО Биоспек, Москва). Перед началом введения препарата в лобно-теменной области черепа крыс, на расстоянии 3-4 мм от сагиттального шва, формировали трепанационное отверстие диаметром около 2 мм, через которое вводили оптоволоконный зонд без нарушения целостности мозговых оболочек. Зонд тщательно фиксировали для предотвращения появления артефактов в регистрируемом сигнале. Интенсивность флуоресценции начинали регистрировать непосредственно перед введением препарата и далее в автоматическом режиме в течение 30 минут после введения, с интервалом 10 секунд на протяжении первых 15 минут и затем каждую минуту на протяжении последующих 15 минут.

Пик флуоресценции Фотолона в тканях головного мозга наблюдался на длине волны 665 нм и его положение не изменялась на протяжении всего периода наблюдения. Непосредственно после введения Фотолона в течение первой минуты наблюдали короткий пик накопления, обусловленный, по всей видимости, высоким содержанием препарата в крови. Затем содержание препарата снижалось из-за его перераспределения из крови в ткани органов. Через 5 минут после введения отмечено увеличение содержания Фотолона в тканях головного мозга, которое достигало максимума к 10 минуте и далее наблюдалось монотонное снижение концентрации.

Полученные предварительные данные демонстрируют возможность применения лазер-индуцированной флуоресцентной спектроскопии для исследований фармакокинетики Фотолона в тканях головного мозга крыс *in vivo*. Наличие Фотолона в тканях головного мозга было зарегистрировано непосредственно после внутривенного введения, и, судя по уровню сигнала флуоресценции, в количестве, достаточном для эффективной фотодинамической терапии. Результаты исследований динамики накопления Фотолона в эксперименте будут учтены при разработке протоколов фотодинамической терапии злокачественных опухолей головного мозга в клинике.

Литература

1. Black, P.M. Brain tumors. Part 1. // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 324. – P. 1471-1476.
2. С. Смирнова, И.Ю.Кубасова, Л.М. Борисова, А.С. Халанский и др. Фотодинамическая терапия опухолей мозга крыс с использованием Фотосенса // Российский Биотерапевтический Журнал. – 2005. – № 3, Т. 4. – С. 53-57.

IN VIVO STUDY OF FOTOLON UPTAKE KINETICS IN THE RAT BRAIN BY LASER-INDUCED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY

Carkouski D.A., Chalau V.M., Istomin Yu.P.

Abstract: Photosensitizer Fotolon is a promising photosensitizer for photodynamic therapy (PDT) of brain tumours. Uptake kinetics study is important because PDT outcome depends on photosensitizer concentration in tissue. We successfully applied the laser induced fluorescence spectroscopy in the in vivo kinetics study of Fotolon in the rat brain. We observed two maxima within the first 30 min after injection. The first one was detected during the first minute and the second maximum was observed approximately ten minutes after injection. High level of Fotolon fluorescence in brain tissues could be interpreted as an evidence of presence of photosensitizer in amount enough for effective PDT of brain tumor.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ И РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ГИДРОФИЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ КУКОЛОК ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

¹Чиркин А.А., ²Коваленко Е.И., ³Буко В.У., ¹Паршонок Д.И., ¹Балаева-Тихомирова О.М., ¹Толкачева Т.А.

¹*Витебский государственный университет им. П.М. Машерова, Витебск, Беларусь;*

²*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь;*

³*Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

В 2007 году был описан антиоксидантный эффект гемолимфы куколок дубового шелкопряда [1]. Известно, что нейтрофилы формируют активные кислородные метаболиты (АКМ) в процессе воспаления при активации под действием различных хемотаксических агентов. Были выбраны модели, где в качестве активирующих воздействий использованы синтетический хемотаксический пептид fMLP, частицы латекса, индуцирующие фагоцитарную активность нейтрофилов, и стеклянная подложка в качестве адгезионного субстрата. Установлено, что при добавлении жидкости куколок дубового шелкопряда происходит снижение выхода АКМ как в случае активации клеток в ходе адгезии, так и при воздействии fMLP и латекса. Ингибирующий эффект жидкости куколок в отношении генерации клетками АКМ, вызванной действием латекса и fMLP, значительно выше, чем в отношении активации клеток в

ходе адгезии на стекло. Выход АКМ, генерируемых при адгезии, снижается на 50% при количестве жидкости куколок в среде, соответствующем разбавлению в 500 раз, а при воздействии на нейтрофилы fMLP и латекса снижение выхода АКМ на 50 % наблюдается при разбавлении НЖСК более чем в 10^4 раз.

В нейтрофилах за генерацию АКМ ответственны НАДФН-оксидазы и миелопероксидаза (МПО). Активация мембраноассоциированных НАДФН-оксидазных комплексов обуславливает образование в нейтрофилах O_2^- и H_2O_2 , которые формируются и атакуют субстраты у наружной поверхности клеток и внутри фагосом. Хорошо изученным хемилюминесцентным индикатором формирования O_2^- и H_2O_2 является люцигенин. С целью уточнения мишеней действия жидкости куколок было изучено ее влияние на Люц-ХЛ нейтрофилов. Установлено, что НЖСК дубового шелкопряда не оказывает значительного влияния на интенсивность Люц-ХЛ нейтрофилов при активации клеток в ходе адгезии, действии латекса и fMLP. Разница между Люм-ХЛ и Люц-ХЛ характеризует участие в генерации АКМ миелопероксидазы, поскольку люцигенин, в отличие от люминола, не окисляется МПО, не взаимодействует с ОСГ и другими продуктами МПО. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об ингибирующем влиянии жидкости куколок на МПО-зависимую генерацию АКМ нейтрофилами. При действии на фермент МПО разрушенных клеток жидкость куколок также ингибировала способность МПО катализировать окисление люминола. Ингибирование на 50% наблюдается при добавлении жидкости куколок в количестве, соответствующем разбавлению более чем в 10^4 раз. Следовательно, компоненты НЖСК могут напрямую влиять на МПО-зависимые реакции. Установлено также, что жидкость куколок тормозит секрецию МПО во внеклеточную среду и при активации клеток в процессе адгезии, и при действии fMLP. По-видимому, влияние НЖСК на процессы активации кислорода в нейтрофилах не ограничивается прямым взаимодействием НЖСК с МПО и ее продуктами, но включает и супрессивное действие на процессы активации нейтрофилов. Показано также, что жидкость куколок не приводит к усилению высвобождения из нейтрофилов лактатдегидрогеназы и, следовательно, не вызывает разрушения нейтрофилов по механизму некроза.

Важными внутриклеточными ферментами, регулирующими процессы сборки НАДФН-оксидазных комплексов, дегрануляции нейтрофилов, а также гибели нейтрофилов по механизму апоптоза, являются фосфатидил-инозитол-3-киназа (ФИ-3-К) и 5-липоксигеназа (5-ЛО). Была изучена зависимость действия жидкости куколок на генерацию нейтрофилами АКМ от ингибиторов 5-ЛО и ФИ-3-К. Показано ингибирующее действие жидкости куколок на Люм-ХЛ нейтрофилов в отсутствие и присутствии в среде МК-886 (блокатор активации 5-ЛО) и LY294002 (ингибитор ФИ-3-К) в случае активации клеток при адгезии и действии fMLP. Ингибирующий эффект НЖСК на генерацию АКМ при действии fMLP слабо зависит от МК-886 и LY294002. В то же время ингибирующее действие жидкости куколок на образование АКМ при активации нейтрофилов в процессе адгезии значительно снижается при блокировании 5-ЛО и ФИ-3-К. Такой результат подтверждает, что действие компонентов жидкости куколок не ограничивается лишь влиянием на активность МПО и включает изменение процессов внутриклеточной сигнализации.

Для оценки уникальности выявленного антиоксидантного эффекта у гемолимфы куколок китайского дубового шелкопряда был произведен поиск аналогичной

активности гемолимфы виноградных улиток (*Helix pomatia L.*). При вычислении 50% ингибирования образования активных форм кислорода показано, что гемолимфа куколок китайского дубового шелкопряда эффективнее гемолимфы виноградных улиток в системе люминол + НОС1 в 200 раз, люминол + миелопероксидаза хрена + H₂O₂ в 200 раз, генерации активных форм кислорода нейтрофилами при адгезии в 700 раз, генерации активных форм кислорода нейтрофилами при действии fMLP в 300 раз и генерации активных форм кислорода нейтрофилами при действии латекса в 4000 раз. Следовательно, ингибирующее действие гемолимфы шелкопряда наблюдается при степени ее разбавления на несколько порядков более высокой, чем у виноградных улиток.

Изучено влияние гидрофильных компонентов куколок дубового шелкопряда, полученных по методу В.А. Трокоз и соавт. [2], на прорастание семян различных растений и их развитие. Выявлены стимуляция процессов прорастания семян бобовых, пшеницы, подсолнечника и усиление развития корней и проростков лука после обработки семян экстрактом куколок дубового шелкопряда, содержащим 7–70 мкг/л альфа-аминоазота, 55–550 мкг/мл суммы свободных аминокислот, 15–250 мкг/л треонина и 12–180 мкг/л глутаминовой кислоты.

Метаболический синдром у крыс воспроизводили скормливанием жидкой высокожировой диеты по Либеру-Де Карли в течение 3 месяцев. Для профилактики развития метаболического синдрома ежедневно на протяжении третьего месяца эксперимента крысам внутривенно вводили дополнительно водный экстракт куколок дубового шелкопряда в дозе (по сумме свободных аминокислот) 7 мкг/мл на 100 г массы тела. В сыворотке крови крыс определяли концентрацию глюкозы энзиматическим методом, инсулина – с помощью набора «РНО-инсулин-ПГ-1¹²⁵» производства ИБОХ НАН Беларуси и рассчитывали индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) по формуле: (концентрация инсулина, пмоль/л × концентрация глюкозы, ммоль/л):405. Статистическая обработка цифрового материала проводилась методами непараметрического анализа по программе ANOVA. Установлено, что одномесячное введение водного экстракта куколок дубового шелкопряда крысам в процессе воспроизведения метаболического синдрома обеспечило уменьшение ТБК-положительных веществ в крови и ткани печени, инсулинорезистентности на 29,6%, концентрации инсулина на 26,7%, концентрации глюкозы на 12% и массы тела на 8,9% по сравнению с животными, которые получали только высокожировую диету. Высказано предположение, что данный эффект связан с аминокислотным составом гемолимфы и антиоксидантной активностью водного экстракта куколок дубового шелкопряда.

Литература:

1. Чиркин, А.А. Антиоксидантная активность куколок китайского дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi G.-M.*) /А.А. Чиркин, Е.И. Коваленко, В.М. Шейбак [и др.] // Ученые записки УО «ВГУ им. П.М. Машерова» 2007. - Том 6. – С. 248-265.
2. Трокоз, В.А. Способ получения лечебного экстракта / Трокоз В.А., Лотош Т.Д., Абрамова А.Б., Арегинская Т.Б., Гухман Л.М. // Авторское свидетельство СССР, № 1787439 А1; патент Украины 16965 (1997 год).

ANTIOXIDANT AND STIMULATES THE GROWTH EFFECTS OF HYDROPHILIC COMPONENTS OAK SILKWORM PUPAE

¹Chirkin A.A., ²Kovalenko E.I., ³Buko V.U., ¹Parshonok D.I., ¹Balaeva-Tihomirova O.M., ¹Tolkacheva T.A.

¹Vitebsky State University, Vitebsk, Belarus;

²Belarus State University, Minsk, Belarus;

³Institute of pharmacology and biochemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The influence of liquid contents of *Antheraea pernyi* G.-M. chrysalis (LC) on reactive oxygen species (ROS) generation and myeloperoxidase (MPO) secretion in human blood neutrophils was studied in vitro. It was revealed that LC leads to inhibition of ROS formation processes in neutrophils as a results of direct inhibition of MPO-dependent oxidative reactions and the decrease of MPO secretion from neutrophils into medium. The action of LC depends on functioning of 5-lipoxygenase and phosphatidil inositol-3-kinase intracellular signal ways in neutrophils in particularly and is not result of necrosis of cells. Hydrophilic components of the liquid oak silkworm pupae stimulated seed germination of several plants and development of roots and have a preventive effect on the development of metabolic syndrome in the experiment.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ФОРСИРОВАННОГО ВВЕДЕНИЯ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЗАВИСИМОСТИ

Шабанов П.Д., Лебедев А.А.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Для формирования элементов поведенческой зависимости от психоактивных веществ используют разные методы, включающие длительную наркотизацию животных, предварительный отбор животных на исходное предпочтение наркотгена или форсированное (в возрастающих дозах) введение наркотгена в течение короткого времени [1]. Последний способ позволяет преодолеть развитие толерантности к веществам

Целью настоящего исследования явилось изучение форсированного введения психоактивных веществ на динамику самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс.

Крысы-самцы Вистар с имплантированными в латеральный гипоталамус электродами в течение 4 дней подряд внутрибрюшинно получали в возрастающих дозах: 1) физиологический раствор (контроль; 0,1–0,2–0,4–0,8 мл/крысу), 2) психомоторный стимулятор фенамин (0,5–1,0–2,0–4,0 мг/кг); 3) наркотический анальгетик фентанил (0,00625–0,0125–0,025–0,025 мг/кг), 4) этанол (0,5–1,0–2,0–4,0 г/кг), 5) снотворное барбитурового ряда этаминал натрия (2,5–5–10–20 мг/кг) или 6) синтетический глюкокортикоид дексаметазон (0,5–1,0–2,0–4,0 мг/кг) [1]. В процессе введения у крыс исследовали реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса [2].

Форсированное введение наркотгенов (фенамина, фентанила, этаминал-натрия,

этанолом и дексаметазоном) в течение 4 дней в возрастающих дозах выявило ряд характерных особенностей. В 1-й день введения веществ в обычных (средних) дозах только фенамин (0,5 мг/кг) вызывал активацию реакции самостимуляции. Прирост числа нажатий на педаль составил в этом случае 33%; количество нажатий возросло с 245 ± 33 до 325 ± 23 после введения фенамина. Коэффициент «рассогласования» при этом снижался с $0,15 \pm 0,03$ до $0,09 \pm 0,02$, что указывает на активацию внутримозговых систем подкрепления. Во 2-й день введения (двойные дозы веществ) активирующее действие выявлено у фенамина (+38%) и дексаметазона (+33%). При этом дексаметазон существенно снижал и пороги самостимуляции – с 211 ± 23 до 166 ± 13 мкА. Тенденцию к повышению числа нажатий на педаль регистрировали у фентанила (+18%) и этанола (+10%). Параллельно этому достоверно снижались значения коэффициентов «рассогласования». Напротив, этаминал-натрий на 28% угнетал самостимуляцию латерального гипоталамуса. Пороги самостимуляции ни один из исследованных препаратов (за исключением дексаметазона) достоверно не менял. В 3-й день введения (4-кратные дозы веществ) психоактивирующее действие наблюдали у фенамина (+43%), фентанила (+27%) и этанола (+22%). Фенамин и фентанил снижали пороги самостимуляции с 132 ± 9 до 120 ± 11 и с 218 ± 20 до 166 ± 24 мкА соответственно. В то же время дексаметазон на 30% снижал число нажатий на педаль в камере Скиннера, повышая пороги самостимуляции с 210 ± 25 до 276 ± 20 мкА. В 4-й день введения (8-кратные дозы веществ) активирующее самостимуляцию действие сохранялось лишь у фенамина (возрастало до +66%) и фентанила (+31%). Параллельно фенамин и фентанил снижали пороги самостимуляции с 173 ± 11 до 112 ± 32 и с 210 ± 18 до 155 ± 14 мкА соответственно. Умеренное угнетение наблюдали у этаминала-натрия (-12%). Пороги самостимуляции при этом не изменялись.

Таким образом, форсированное (в возрастающих дозах) введение различных психоактивных веществ выявило следующую закономерность: у психостимулятора фенамина и опиоидного анальгетика фентанила подкрепляющие эффекты возрастают по мере увеличения дозы веществ. Дексаметазон оказывает модулирующее действие на самостимуляцию, повышая (на 2-й день введения, доза 1 мг/кг) или подавляя (на 3-й день введения, доза 2 мг/кг) ее. Этанол умеренно активирует реакцию самостимуляции в дозах 1–2 г/кг. И, наконец, этаминал-натрий в целом оказывает умеренное угнетающее действие на реакцию самостимуляции независимо от дозы, повышая пороги самостимуляции.

Реакция самостимуляции мозга является жестко детерминированной безусловной рефлекторной реакцией. Она сравнительно мало подвержена колебаниям и, как правило, имеет определенную мощность реализации. Существенно изменить реакцию самостимуляции могут лишь психомоторные стимуляторы амфетаминового типа (активировать ее) или препараты депримирующего действия (нейролептики, транквилизаторы). Тем не менее, реакцию самостимуляции часто используют для оценки подкрепляющих свойств психоактивных веществ [2, 3]. Использование форсированного способа введения психоактивных веществ позволяет, с одной стороны, выявить дозы веществ, наиболее активные в отношении реализации реакции самостимуляции, с другой стороны, оценить подкрепляющие свойства препарата в достаточно широком диапазоне доз.

Так, в наших опытах фенамин и фентанил в широком диапазоне доз активировали реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса, причем эффект возрастал

пропорционально использованной дозе веществ вплоть до максимально переносимых доз. При этом фенамин был приблизительно в 2 раза активнее фентанила. Этот феномен мы отмечали и раньше в отношении опиатного анальгетика морфина. В то же время этанол оказывал умеренный психоактивирующий эффект, но в больших дозах (1–2 г/кг). Нужно отметить, что используемые в подобного рода опытах дозы этанола, как правило, значительно ниже, поскольку в дозе 2 г/кг, например, этанол вызывает выраженное нарушение поведения (неустойчивая походка, появление стереотипий, повышенная двигательная активность). Дексаметазон в диапазоне доз от 0,125 до 1,0 мг/кг активировал подкрепляющие системы мозга. В данных опытах дексаметазон (1 мг/кг, 2-й день введения) также стимулировал реакцию самораздражения мозга. Увеличение дозы в 2 раза (до 2 мг/кг) инвертировало эффект дексаметазона на ингибирующий. Это в целом укладывается в представления, что дексаметазон активирует мозговые системы подкрепления только в определенном диапазоне доз. При этом дексаметазон вызывал максимальную экспрессию мРНК для кортиколиберина в гипоталамусе в сравнении с другими наркотгенами [1]. И, наконец, этаминал-натрий оказывал умеренное угнетающее действие на реакцию самостимуляции, повышая при этом пороги самостимуляции. Ранее нами было показано, что этаминал-натрий может активировать подкрепляющие системы мозга, причем даже сильнее, чем морфин. Видимо при форсированном режиме введения данный феномен не проявляется.

Полученные данные позволяют оценить форсированный способ наркотизации с позиции вовлечения подкрепляющих систем мозга. Безусловно, такой метод введения психоактивных веществ в возрастающих дозах имеет право на жизнь, поскольку в целом отражает характер действия наркотгенов на подкрепление. Любопытно отметить, что для психостимуляторов (фенамин) и опиатов (фентанил) подкрепляющие свойства наркотгенов в данном тесте возрастают. Аналогичную, но более abortивную форму влияния на подкрепление регистрировали для этанола и дексаметазона. И лишь барбитурат этаминал-натрий не выявил четких позитивных характеристик подкрепления. Все это позволяет сделать вывод, что форсированный способ введения психоактивных веществ может с успехом быть использован для оценки их наркотгенных свойств.

Поддержана грантом РФФИ №07-04-00549а.

Литература:

1. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Экспрессия мРНК кортиколиберина и вазопресина в гипоталамусе и миндалине крыс при введении наркотгенов // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2008. Т. 146. № 9. С. 292-296.
2. Shabanov P.D. The extended amygdala CRF receptors regulate the reinforcing effect of self-stimulation // Int. J. Addiction Res. 2008. V. 1. № 1. P. 200-204.
3. Shabanov P.D., Lebedev A.A., Streltsov V.F., Pavlenko V.P. Involvement of amygdaloid and hypothalamic CRF receptors in the reinforcing effects of psychoactive drugs in rats // Eur. Neuropsychopharmacol. 2008. V.18. Suppl. 4. P. 540.

EXPERIMENTAL MODEL OF FORCED ADMINISTRATION OF PSYCHOACTIVE DRUGS FOR ASSESSMENT OF BEHAVIORAL ELEMENTS OF DRUG DEPENDENCE

Shabanov P.D., Lebedev A.A.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

Wistar rats with implanted into the lateral hypothalamus electrodes received within 4 days i.p. the following drugs in elevated doses: 1) physiological saline (control; 0.1-0.2-0.4-0.8 ml/rat), 2) psychostimulant amphetamine (0.5-1.0-2.0-4.0 mg/kg); 3) opioid fentanyl (0.00625-0.0125-0.025-0.05 mg/kg), 4) ethanol 40% solution (0.5-1.0-2.0-4.0 g/kg), 5) barbiturate sodium ethaminal (2.5-5-10-20 mg/kg) or 6) synthetic glucocorticoid dexamethasone (0.5-1.0-2.0-4.0 mg/kg). The forced regimen of drug administration led to gradual load of the organism and prevented drug tolerance. The self-stimulation reaction of the lateral hypothalamus was registered every day within drug administration. The forced (in elevated doses) administration of psychoactive drugs revealed the following regularity: firstly, the dose-dependent effect of psychostimulant amphetamine and opioid fentanyl; secondly, dexamethasone modulated self-stimulation, increasing (2 day, 1 mg/kg) or decreasing it (3 day, 2 mg/kg); thirdly, ethanol (1-2 g/kg) activated self-stimulation slightly. At last, sodium ethaminal slightly inhibited self-stimulation and increased the thresholds of self-stimulation. Therefore, self-stimulation reaction is suitable method to evaluate the reinforcing properties of drugs after their forced administration.

ПСИХОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ НООТРОПОПОДОБНЫХ ПЕПТИДОВ: СРАВНЕНИЕ С КЛАССИЧЕСКИМИ НООТРОПАМИ

Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Корнилов В.А., Лавров Н.В., Любимов А.В., Яклашкин А.В.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Фармакологические препараты пептидной структуры неизменно привлекают пристальное внимание специалистов в области психофармакологии. В то же время большинство клиницистов считает такие препараты малоактивными и недостаточно перспективными для лечения различных видов патологии ЦНС [1, 2]. Целью настоящего исследования стало изучение спектра психотропной активности 9 пептидных препаратов в сравнении с ноотропными средствами пирацетамом и мексидолом по поведенческим тестам «открытого поля», приподнятого крестообразного лабиринта, «интродер-резидент» и теста Порсолта у крыс. Исследование направлено на сравнение фармакологической активности препаратов пептидной природы с классическими ноотропными средствами.

Опыты выполнены на 144 крысах Вистар массой 200–220 г. Свободную двигательную активность животных исследовали в тесте «открытого поля», представляющего собой круглую площадку диаметром 80 см с 16 отверстиями (норками) диаметром 3 см каждая. Продолжительность одного опыта составляла 3 мин. Регистрировали ряд элементарных двигательных актов и поз: горизонтальную

и вертикальную активность, груминг, заглядывание в норки, дефекацию, уринацию. Проявления тревожности исследовали в приподнятом крестообразном лабиринте. Лабиринт состоял из двух открытых рукавов 50x10 см и двух закрытых рукавов 50x10 см с открытым верхом, расположенных перпендикулярно относительно друг друга. Высота над полом 1 м. Животное помещали в центр лабиринта. Путем нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером, фиксировали время пребывания в закрытых и открытых рукавах, время свешивания в открытых рукавах и выглядывания из закрытых рукавов. Продолжительность теста составляла 5 мин. Агрессивность изучали у половозрелых крыс самцов в тесте «чужак-резидент» в соответствии с описанием этологического атласа [3]. Смысл методики состоит в том, что к крупному самцу, находящемуся в клетке (резиденту), подсаживают более мелкое животное (чужака, или интродера). Регистрировали число поведенческих проявлений агрессивности и защиты, а также общее число поведенческих актов, описывающих взаимоотношение двух особей крыс. Антидепрессантную активность изучали в плавательном тесте Порсолта. Крыс на 6 мин помещали в стеклянный цилиндр диаметром 20 см и высотой 40 см, на 1/3 заполненный водой с температурой $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Регистрировали время активного и пассивного плавания и время иммобилизации. Для фармакологического анализа использовали 9 пептидных препаратов с ноотропным типом действия: кортексин (1 мг/кг), церебролизин (1 мг/кг), дельтаран (0,1 мг/кг), кортаген (1 мг/кг), олеил-кортаген (1 мг/кг), семакс (0,1 мг/кг), селанк (0,1 мг/кг), ноопепт (1 мг/кг), дилепт (1 мг/кг), которые вводили внутривентриально за 30–40 мин до тестирования [2]. В качестве препаратов сравнения использовали ноотроп пирацетам (200 мг/кг) и антиоксидант с ноотропным типом действия мексидол (50 мг/кг). Контрольные животные получали инъекцию 0,9%-ного раствора хлорида натрия (физиологический раствор). Результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

В «открытом поле» из всех изученных пептидов кортексин, церебролизин, олеил-кортаген и селанк увеличивали, а дилепт снижал горизонтальную активность крыс. Вертикальную активность повышали церебролизин, олеил-кортаген и пирацетам. В то же время дилепт, ноопепт, семакс, селанк и мексидол снижали вертикальную двигательную активность в «открытом поле». Церебролизин существенно (более чем в 3 раза), а селанк и пирацетам умеренно повышали исследовательскую активность, оцененную по числу заглядываний в норки. Из всех пептидов только олеил-кортаген в 2 раза снижал норковый рефлекс. Оценивая груминг как показатель комфортности, следует отметить, что церебролизин, дельтаран, селанк, пирацетам и в меньшей степени дилепт активировали груминговые реакции, при этом ни один из препаратов их не снижал. И, наконец, пирацетам и церебролизин повышали эмоциональность животных в «открытом поле», в то время как семакс, селанк, олеил-кортаген и в меньшей степени ноопепт, кортаген и кортексин ее снижали. Таким образом, выраженным активирующим действием на двигательные и исследовательские компоненты поведения в «открытом поле» обладают преимущественно церебролизин, олеил-кортаген и пирацетам, при этом пирацетам и церебролизин повышают эмоциональность животных. Депримирующий тип действия выявлен у дилепта, снижавшего горизонтальную и вертикальную активность крыс.

В приподнятом крестообразном лабиринте обладали противотревожным действием ноопепт, олеил-кортаген, дилепт, кортексин, церебролизин, дельтаран, кортаген и

мексидол, которые значительно уменьшали время нахождения животных в открытых руках лабиринта и число выглядываний из закрытых рукавов. Из всех препаратов только пираретам оказывал умеренное анксиогенное действие, увеличивая время нахождения крыс в открытках рукава лабиринта.

В тесте «чужак-резидент» антиагрессивное действие выявлено только у селанка. Кортиксин умеренно усиливал агрессивные реакции и защитное поведение, а церебролизин блокировал показатели защитного поведения. Продолжительность защитных паттернов поведения существенно повышал ноопепт. Индивидуальное поведение активировали селанк и кортиксин, а снижал церебролизин. При этом селанк увеличивал общительность животных.

В тесте Порсолта на выявление антидепрессантных свойств пептидов найдено, что время иммобилизации (основной показатель теста) уменьшали олеил-кортаген, дилепт и кортиксин. Существенно увеличивали данный показатель церебролизин, семакс, кортаген и селанк. Препараты сравнения пираретам и мексидол были не активны в данном тесте. Это указывает, что первая группа пептидов (олеил-кортаген, дилепт и кортиксин) обладает антидепрессантными свойствами, а вторая группа (церебролизин, семакс, кортаген и селанк), напротив, депрессантными.

Таким образом, анализ психофармакологического профиля 9 пептидных препаратов в сравнении с действием пираретама и мексидола показал, что выраженным активирующим действием на двигательные и исследовательские компоненты поведения в «открытом поле» обладают преимущественно церебролизин, олеил-кортаген и пираретам, при этом пираретам и церебролизин повышают эмоциональность животных. Депримирующий тип действия выявлен у дилепта, снижавшего горизонтальную и вертикальную активность крыс. Антиагрессивное действие в тесте «интродер-резидент» выявлено только у селанка. Ряд исследованных пептидов (олеил-кортаген, дилепт и кортиксин) проявляет антидепрессантные свойства, тогда как церебролизин, семакс, кортаген и селанк, напротив, депрессантную активность в тесте Порсолта. Следовательно, явные психоактивирующие свойства присущи церебролизину, олеил-кортагену, кортиксину и пираретаму, тогда как дилепт, селанк и в меньшей степени семакс способны несколько угнетать поведение крыс, проявляя депримирующий тип действия. Полученные данные позволяют сделать вывод, что пептидные препараты не только не уступают по активности классическим низкомолекулярным фармакологическим средствам, полученным путем типового химического синтеза, но и во многом их превосходят.

Поддержана грантом РФФИ №07-04-00549а.

Литература:

1. Шабанов П.Д. Психофармакология. СПб.: Элби-СПб. - 2008. - 416 с.
2. Шабанов П.Д. Фармакология пептидных препаратов // Мед. акад. журн. - 2008. - Т. 8. - № 4. - С. 3-23.
3. Михеев В.В., Шабанов П.Д. Фармакологическая асимметрия мозга. СПб.: Элби-СПб. - 2007. - 384 с.

PSYCHOPHARMACOLOGICAL PROFILE OF NOOTROPIC-LIKE PEPTIDES: COMPARISON WITH CLASSIC NOOTROPIC

Shabanov P.D., Lebedev A.A., Kornilov V.A., Lavrov N.V., Lyubimov A.V., Yaklashkin A.V.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

The analysis of psychopharmacological profile of 9 peptide drugs (cortexin, cerebrolysine, deltaran, cortagen, oleyl-cortagen, semax, selank, noopept, dilept) in comparison with piracetam and mexidol was shown that cerebrolysine (1 mg/kg), oleyl-cortagen (1 mg/kg) and piracetam (200 mg/kg) possessed activating effect on motor and research components of behavior in "open field" test, and piracetam and cerebrolysine increased the emotional status of rats. Deprimating type of action was revealed in dilept (1 mg/kg), which decreased horizontal and vertical motor activity in rats. Only one peptide, selank (0.1 mg/kg), possessed antiaggression action. A number of peptides (oleyl-cortagen, dilept and cortexin) demonstrated antidepressant effects, while cerebrolysine (1 mg/kg), oleyl-cortagen (1 mg/kg) and selank (0.1 mg/kg), on the other hand, performed depressant action on rat behavior in the Porsolt' test. Therefore, the significant psychoactivating properties are typical for cerebrolysine, oleyl-cortagen, cortexin and piracetam, while dilept, selank and in the less degree semax inhibited rat behavior, demonstrating deprimating type of action.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКОЙ ЛЕЙКОПЕНИИ, ВЫЗВАННОЙ 5-ФТОРУРАЦИЛОМ

Шилов Ю.В., Аксенова Н.В., Гребенюк А.Н.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Главной целью совершенствования системы медицинской помощи отравленным является поиск средств, способных вмешиваться в патогенез патологических состояний, складывающихся при действии на организм факторов химической природы, предотвращая развитие или облегчая их течение. Одним из таких состояний является лейкопенический синдром, развивающийся под влиянием большого числа веществ цитотоксического действия, широко применяемых в хозяйственной деятельности и клинической практике. Так, лейкопения, развивающаяся на фоне химиотерапии у онкологических больных, является одним из определяющих факторов возможности дальнейшего противоопухолевого лечения. Проблема медикаментозной профилактики и раннего лечения лейкопенического синдрома химической этиологии до настоящего времени не решена.

В литературе появились данные об эффективном применении препаратов из группы цитокинов для снижения глубины и длительности лейкопении, вызванной цитотоксикантами. Особый интерес вызывает интерлейкин-1 β – ключевой медиатор гемопоэза, регулирующий процессы пролиферации, дифференцировки и функциональной активности клеток иммунной и гемопоэтической системы. Исследования последних лет показали способность интерлейкина-1 β восстанавливать нарушенное вследствие радиационного и токсического воздействия костномозговое кроветворение.

Целью нашей работы было изучение возможности применения интерлейкина-1 β для коррекции лейкопенического синдрома, формируемого 5-фторурацилом.

Экспериментальное исследование проведено на 64 белых беспородных крысах-самках массой 200–220 г из питомника РАМН «Рапполово».

На первом этапе исследования была разработана модель лейкопенического синдрома при интоксикации 5-фторурацилом. Среднесмертельная доза 5-фторурацила после внутрибрюшинного введения составляла 200 мг/кг. Животным вводили токсикант в дозах 0,5; 0,75; 1,0 и 1,25 ЛД₅₀. Забор крови у животных осуществлялся каждый второй день с момента введения 5-фторурацила. Определялось общее количество лейкоцитов, абсолютное количество лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови. В результате установлено, что максимальное снижение количества лейкоцитов периферической крови у животных во всех группах составляло около 14% от исходного уровня и наблюдалось к 7 суткам интоксикации. Восстановление исходного уровня лейкоцитов у животных, получивших 5-фторурацил в дозе 0,5 и 0,75 ЛД₅₀, происходило к 10 суткам, у животных, получивших 5-фторурацил в дозе 1,0 ЛД₅₀, к 12 суткам, а у животных, получивших 5-фторурацил в дозе 1,25 ЛД₅₀, к 14 суткам. Для проведения дальнейших исследований была выбрана модель с введением 5-фторурацила в дозе 1,25 ЛД₅₀, при которой удалось достичь глубокой и максимально длительной лейкопении.

На разработанной модели изучалась эффективность терапевтического применения интерлейкина-1 β . Введение интерлейкина-1 β в дозе 5 мкг/кг осуществлялось однократно внутрибрюшинно через 1 или 24 ч после введения токсиканта. Животные контрольной группы в те же сроки получали 0,9 % раствор хлорида натрия. В каждой группе было по 8 животных. Отбор крови для гематологических и цитохимических исследований проводился каждый второй день в первые десять суток с момента введения токсиканта, а далее – на каждые пятые сутки. Общепринятыми методами осуществляли подсчет общего количества лейкоцитов, абсолютного количества лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови. В период снижения числа лейкоцитов, на глубине лейкопении и в период восстановления оценивали функционально-метаболический статус нейтрофилов периферической крови по содержанию гликогена, активности миелопероксидазы и щелочной фосфатазы.

Выживаемость в группе животных, получивших интерлейкин-1 β через 24 ч после введения 5-фторурацила, составила 50%, в то время как выживаемость в контроле была лишь 13%. Все животные, получившие интерлейкин-1 β через 1 ч после введения 5-фторурацила, погибли к одиннадцатым суткам интоксикации. Хотя глубина лейкопении у животных во всех группах составляла около 15%, у животных, получивших интерлейкин-1 β через 24 ч после введения 5-фторурацила, к шестым суткам отмечалась тенденция к восстановлению числа лейкоцитов, в то время как у животных контрольной группы эта тенденция определялась только на восьмые сутки. Восстановление количества лейкоцитов периферической крови до исходного уровня в группе животных, получивших интерлейкин-1 β через 24 ч после введения 5-фторурацила, наблюдалось на 14 сутки. У животных контрольной группы на 14 сутки отмечалось превышение исходного уровня лейкоцитов периферической крови на 60% и только к 18 суткам происходило восстановление нормального физиологического уровня.

При оценке функционально-метаболического состояния нейтрофилов отмечалось,

что со вторых суток после введения 5-фторурацила активность щелочной фосфатазы у животных контрольной группы и животных, получивших интерлейкин-1 β через 1 ч после введения 5-фторурацила, была снижена на 50%. У животных, получивших интерлейкин-1 β через 24 ч после введения 5-фторурацила, активность щелочной фосфатазы была снижена только на 35%. Восстановление активности щелочной фосфатазы нейтрофилов отмечалось к 14 суткам у животных всех групп.

На вторые сутки у животных всех групп активность миелопероксидазы нейтрофилов была снижена на 30–35% от исходного уровня. При обеих схемах введения интерлейкин-1 β не оказывал существенного влияния на этот показатель. Восстановление активности миелопероксидазы до исходного уровня отмечалось к 14 суткам интоксикации.

Содержание гликогена в нейтрофилах периферической крови на вторые сутки снижалось на 40% у животных контрольной группы и животных, получивших интерлейкин-1 β через 1 ч после введения 5-фторурацила. У животных, получивших интерлейкин-1 β через 24 ч после введения 5-фторурацила, содержание гликогена в нейтрофилах периферической крови на вторые сутки снижалось только на 25%. К 14 суткам содержание гликогена в нейтрофилах периферической крови восстанавливалось до исходного уровня у всех животных.

Таким образом, применение интерлейкина-1 β через 24 ч после введения 5-фторурацила позволяет уменьшить длительность лейкопенического синдрома и обеспечить скорейшее восстановление числа лейкоцитов до исходного уровня.

EXPERIMENTAL EVALUATION EFFECTIVENESS OF INTERLEUKIN-1 β FOR CORRECTING TOXIC LEUKOPENIA CAUSED BY 5-FLUOROURACIL

Shilov Y.V., Aksenova N.V., Grebenyuk A.N.

Medical Military Academy, St.-Petersburg, Russia

Presents the results of research influence of interleukin-1 on the leucopenia caused by 5-fluorouracil in rats.

РОЛЬ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В ПАТОГЕНЕЗЕ КОМПРЕССИОННОЙ ТРАВМЫ И ЕЕ ЛЕЧЕНИИ

Юнусов И.А., Зарубина И.В.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Преобладающие в раннем периоде тяжелой компрессионной травмы нейрорефлекторные влияния определяют значимость афферентной болевой импульсации в возникновении выраженных нарушений функциональной и метаболической активности жизненно важных органов. Порог болевого ощущения формируется на основе генетически детерминированного взаимодействия ноцицептивной и антиноцицептивной систем организма, является эволюционно выработанной жизненно важной константой, различной у индивидуумов [1]. Целью исследования явилось изучение роли болевой чувствительности в патогенезе тяжелой

компрессионной травмы и ее лечения.

Работа выполнена на 58 ненаркотизированных беспородных крысах-самцах массой 170–190 г. Данное исследование одобрено локальным комитетом по этике Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Тяжелую компрессионную травму моделировали 4-часовым сдавлением мягких тканей тазовых конечностей в специальных тисках площадью 5 см² с желобообразным вырезом для предупреждения перелома бедренной кости [2]. Группа крыс, иммобилизованных в течение 4 ч, служила контролем. До нанесения травмы у животных определяли индивидуальную болевую чувствительность в тесте отдергивания хвоста (tail-flick) в ответ на ноцицептивный раздражитель. Латентный период отдергивания хвоста определяли с помощью оптоэлектронного анальгезиметра ТФ-003. Мощность лампы осветителя составляла 50 Вт, сила тока 3 мА, время отставления – 20 с. Точность регистрации – 0,1 с. Животные с болевым порогом менее 5 с (временем задержки отдергивания хвоста) считались высокочувствительными к боли (ВЧ), более 5 с – низкочувствительными (НЧ) к боли. Исследования проводили сразу и через 12 ч после декомпрессии. Об общих реакциях организма на тяжелую компрессионную травму судили по изменениям артериального давления, частоты дыхания, частоты сердечных сокращений, ректальной температуры, потребления кислорода. Кислотно-основное состояние оценивали по рН артериальной крови, напряжению кислорода (P_{O₂}), напряжению углекислого газа (P_{CO₂}), величине актуального бикарбоната, дефициту буферных оснований, содержанию в крови молочной и пировиноградной кислот, адениловых нуклеотидов [3]. Цитофлавин (НПФ «Полисан», Санкт-Петербург) вводили внутривенно сразу после декомпрессии в дозе 1,5 мл/кг массы тела. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне значимости 95% (p<0,05).

Установлено, что сразу после травмы на фоне общего угнетенного состояния у ВЧ животных в большей степени, чем у НЧ крыс, уменьшалась частота дыхания, потребление кислорода, ректальная температура. У животных обеих групп изменялись показатели кровообращения, однако у ВЧ крыс более значимо снижалось артериальное давление и частота сердечных сокращений. В патогенезе циркуляторных расстройств в раннем периоде травматической болезни важную роль играют нарушения центральной гемодинамики, развивающиеся в компрессионном периоде и быстро прогрессирующие после декомпрессии. Нарушение микроциркуляции приводит к снижению доставки кислорода к тканям и, как следствие этого, усилению гликолитических процессов в клетках с образованием избыточного количества нелетучих кислот и изменениям кислотно-основного состояния крови. Степень нарушения кислотно-основного состояния крови – интегральный показатель, отражающий состояние физиологических механизмов компенсации шока. Изменения кислотно-основного состояния крови наблюдали сразу после декомпрессии крыс. Так, у ВЧ животных в большей степени, чем у НЧ крыс, был выражен лактацидоз, снижалось напряжение кислорода, возрастало напряжение углекислоты в крови и дефицит буферных оснований. Первичная реакция на травму требует соответствующего напряжения метаболических реакций и выраженных энергетических затрат. Установлено, что тяжелая компрессионная травма сопровождалась снижением в ткани печени уровня АТФ на фоне увеличения

продуктов его гидролиза, что было более выражено у ВЧ животных. Так же у ВЧ крыс наблюдали более значимые проявления цитолитического синдрома, что выражалось в увеличении в крови активности ферментов переаминирования на фоне снижения их активности в печени. Сразу после декомпрессии гибели животных не наблюдали, но через 12 ч после травмы погибало 44% НЧ и 57% ВЧ животных. Одним из перспективных средств коррекции последствий тяжелой компрессионной травмы являются субстратные антигипоксанты метаболического типа действия, среди которых цитофлавин с противогипоксическим, антиоксидантным, нейротропным, антиоксическим действием. Показано, что системное введение сразу после декомпрессии крысам цитофлавина способствовало увеличению выживаемости животных, восстановлению у них основных показателей функциональных систем и метаболических показателей через 12 ч после травмы у животных обеих групп. Наибольшую эффективность цитофлавин проявил в группе НЧ животных.

Таким образом, тяжелая компрессионная травма у животных с высокой и низкой чувствительностью к боли вызывает качественно одинаковые изменения функционального состояния и метаболизма, которые наиболее выражены у ВЧ животных. Очевидно, НЧ крысы обладают более мощными компенсаторными механизмами, чем ВЧ животные, что обеспечивает их большую выживаемость в посттравматическом периоде и сопровождается менее выраженными изменениями основных функциональных систем организма и метаболических нарушений. Индивидуальная болевая чувствительность имеет важное значение в патогенезе тяжелой компрессионной травмы и ее лечения.

Литература:

1. Кукушкин М. Л., Тихоновский А. А. Молекулярные механизмы боли // Боль. – 2006. – № 1. – С. 43-47.
2. Нигуляну В.И., Ельский В.Н., Криворучко Б.И., Зорькин А.А. Синдром длительного раздавливания. – Кишинев: Штиинца, 1984. – 224 с.
3. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И.Прохоровой. – Л.: ЛГУ, 1982. – 272 с.

ROLE OF PAIN SENSITIVITY IN PATHOGENESIS OF COMPRESSION TRAUMA AND ITS TREATMENT

Yunusov I.A., Zarubina I.V.

Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

The disorders of main functional systems and metabolism were experimentally shown to produce in rats with high pain sensitivity. It is suggested that individual differences in pain sensitivity play an important role in pathogenesis of severe compression trauma and in its treatment.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Кевра М.К.</i> Клиническая фармакология в Беларуси.....	3
<i>Мараховский Ю.Х.</i> Аминокислоты как лекарственные средства: от научных достижений к клинической практике.....	4
<i>Петров П.Т.</i> Фотосенсибилизатор фотолон – от научной идеи до практической реализации.....	9
<i>Анисович М.В., Морозова Е.В., Николаевич Л.Н.</i> Влияние каротиноидов на пролиферацию и апоптоз клеток в тканях крыс при сочетанном введении с нитратом свинца.....	14
<i>Байрамов А.А., Полетаева А.О., Юкина Г.Ю., Прошин С.Н., Шабанов П.Д.</i> Нейрохимические последствия пренатального воздействия селективных М- и Н-холиноблокаторов.....	16
<i>Басок Ю.Б., Саломатина Л.А., Алексева О.С., Зайцева М.А., Севастьянов В.И.</i> Исследование фармакокинетики ацетилсалициловой кислоты, хлорпропамида и ацизола при аппликации трансдермальных терапевтических систем.....	18
<i>Башарин В.А., Носов А.В., Тарумов Р.А.</i> Экспериментальная терапия сукцинатом натрия и фосфокреатином острых тяжелых отравлений нитритом натрия.....	20
<i>Василевская С.А., Калачик В.П., Горгун Ю.В., Карасева Г.А., Уласевич Д.Н., Мараховский Ю.Х.</i> Уточнение влияния незаменимых разветвленных аминокислот на синдром мальнутриции при экспериментальном моделировании хронического диффузного заболевания печени.....	22
<i>Власенко Т.Н., Назаров В.Б., Гребенюк А.Н., Зацепин В.В., Аксенова Н.В.</i> Экспериментальная фармакология современных противолучевых средств.....	24
<i>Воробьева В.В.</i> Изменение оснащенности митохондрий миокарда эндогенными субстратами в зависимости от вибрации и схем фармакологической защиты <i>in vivo</i>	26
<i>Вьюнова Т.В., Шевченко К.В., Шевченко А.А., Андреева Л.А., Безуглов В.В.</i> Синтетические аналоги АКТГ (4-10) как нейромодуляторы и основа для будущих лекарственных препаратов.....	28
<i>Гинько Т.А.</i> Применение фотодинамической терапии с фотолоном в гастроинтестинальной эндоскопии.....	30
<i>Гольшико П.В., Туманов А.В., Виноградов В.В.</i> Адреналин и стартовая активация щитовидной железы при стрессе.....	32
<i>Гроховская Т.Ч.</i> Ферменты глутаминового цикла структур ЦНС при алюминиевом нейротоксикозе и введении пантетина.....	33
<i>Дорофей Д.С., Гуринович В.А.</i> Влияние D-пантетина на уровень кофермента А и ацил-СоА в субклеточных фракциях миокарда крыс при интоксикации хлористым алюминием.....	36
<i>Дремза И.К., Чещевик В.Т., Судникович Е.Ю., Забродская С.В., Лапина Е.А., Заводник И.Б.</i> Структурно-функциональные нарушения митохондрий печени крыс при токсическом воздействии и их фармакологическая коррекция	38

<i>Дубашинская Н.В., Хишова О.М.</i> Научно обоснованные подходы к выбору технологии экстрагирования корневищ с корнями синюхи.....	41
<i>Жемойтяк В.А., Лецинская М.Р.</i> Всасывание железа у детей с хронической гастродуоденальной патологией при различном уровне ферритина сыворотки крови	44
<i>Жукова И.А., Павленко В.С., Буловацкая И.В., Никифорова И.Н.</i> Половые различия в восприимчивости к действию анальгетиков у мышей	46
<i>Застенская И.А., Чашинская Т.И., Марусич Н.И., Шуляковская О.В.</i> Биологический мониторинг как обязательный элемент в оценке состояния здоровья в связи с воздействием окружающей среды.....	47
<i>Катковская И.Н., Шевалье А.А., Омелянчик С.Н.</i> Изменение показателей системы кофермента А и активности мембраносвязанных ферментов АТФазы и ацетилхолинэстеразы на фоне введения гомопантотеновой кислоты.....	50
<i>Кершенгольц Б.М., Аньшакова В.В., Шейн А.А., Хлебный Е.С.</i> Продукты инновационных биотехнологий переработки природного северного растительного и животного биосырья.....	52
<i>Киселев П.А., Бовдей Н.А., Гончарова Л.В., Шунк В.-Х., Шварц Д.</i> Полиморфизм монооксигеназ как один из факторов разнородной индивидуальной чувствительности к действию физиологически активных веществ.....	55
<i>Коваленчик И.Л.</i> Активность изоферментов глутатионпероксидаз кишечного тракта при интоксикации алюминием и введении пантетина...	56
<i>Койро О.О., Товчига О.В., Степанова С.И., Штрыголь С.Ю.</i> Получение экстрактов и белково-полисахаридных комплексов из разных видов сырья сныти обыкновенной (<i>Aegorodium Podagraria L.</i>), их нефротропные эффекты.....	59
<i>Кравченко Е.В., Ганжурова Н.В., Цубленок П.М.</i> Исследование влияния ноопепта на работоспособность инбредных мышей C57BL/6 при истощающих нагрузках на тредмилле	61
<i>Кравченко Е.В., Максимова Л.В., Хританкова И.В., Кокаровцев А.С., Навицкий В.В.</i> Влияние зоосоциального фактора на выраженность острого угашения горизонтальной и вертикальной двигательной активности нелинейных мышей	63
<i>Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М.</i> Нарушения циркадного ритма двигательной активности и развитие десинхроноза у мышей после диадных агонистических взаимодействий.....	64
<i>Лашковская Т.А.</i> Терапия аритмий у детей и подростков	66
<i>Лелевич В.В., Винницкая А.Г., Лелевич С.В., Курбат М.Н.</i> Морфинсовая интоксикация и обмен ГАМК в коре больших полушарий головного мозга крыс.....	68
<i>Лелевич В.В., Лелевич С.В.</i> Новые методы метаболической коррекции в наркологии.....	71
<i>Лужнова С.А.</i> Половые особенности влияния дапсона на показатели красной крови.....	73
<i>Лукиенко Е.П.</i> Влияние пантетина на показатели тиол-дисульфидного	

баланса белков головного мозга при окислительном стрессе.....	74
<i>Лужк М.В., Зарубина И.В., Шабанов П.Д.</i> Изучение антигипоксических и антиоксидантных свойств производных аминотиола и триазининдола.....	76
<i>Мараховский Ю.Х., Горзун Ю.В., Калачик В.П., Тарасюк И.В., Веялкина Н.Н., Гринцевич И.Б., Куваева З.И.</i> Фармакокинетика L-орнитин-L-аспартата: экспериментальное исследование.....	79
<i>Марышева В.В., Шабанов П.Д.</i> Динамическое (во времени) исследование антигипоксической активности производного тиазолоиндольной структуры ВМ-606 в модели гипоксии с гиперкапнией.....	82
<i>Михеев В.В., Шабанов П.Д.</i> Аналог меланостатина алаптитд меняет межполушарную асимметрию головного мозга у мышей линий DBA/2 и C57BL/6.....	84
<i>Мойсеёнок А. Г., Катковская И. Н., Радута Е. Ф., Гупенец Д.В., Ельчанинова М.А.</i> Изучение антиоксидантного действия ноотропного препарата – гомопантотеновой кислоты.....	86
<i>Никифорова И.Н., Жукова И.А., Чукарина Т.Н., Павленко В.С.</i> Взаимодействие трамадола и анальгина при моделировании острой боли..	88
<i>Опарин А.Ю., Коновалова Н.В., Пилецкая Т.П., Степура И.И.</i> Роль оксоферрильных форм миоглобина, гемоглобина и фенолосодержащих соединений в окислительной трансформации тиамин и его производных..	90
<i>Пеховская Т.А., Коваленчик И.Л., Ельчанинова М.А.</i> Эффект селенометионина на селенемию и активность глутатионпероксидаз крови и мышц у белых крыс при интоксикации ацетаминофеном и этионином.....	92
<i>Рудько О.И., Сергеева Н.И., Обухова М.Ф., Данилова Р.А.</i> Влияние активной иммунизации к фрагменту холецистокинина 30-33 (ХЦК-4) на алкогольную мотивацию и поведение белых крыс.....	94
<i>Самотруева М.А.</i> Влияние фенибута и фенотропила на уровень антиэритроцитарных антител на модели циклофосфамидной иммуносупрессии.....	96
<i>Сергеенко С.М., Свергун В.Т., Коваль А.Н.</i> Изменение показателей митохондриального окисления печени крыс при воздействии инкорпорации радионуклидов ¹³⁷ Cs и антиоксидантного комплекса витаминов.....	99
<i>Синюхин А.Б., Тимошинов Г.П., Шабанов П.Д.</i> Синтетический аналог дельта сон-индуцирующего пептида регулирует функциональное состояние центральной нервной системы детей, проходящих курс высокодозной химиотерапии.....	101
<i>Синяк В.Г.</i> Анализ состояния здоровья медицинского персонала организаций здравоохранения Гродненской области.....	103
<i>Сыса А.Г., Киселев П.А., Жабинский В.Н., Хрипач В.А.</i> Брассиностероиды как новый класс соединений с антипролиферативными свойствами.....	105
<i>Титов В.Ю., Петренко Ю.М.</i> Возможности практического применения окиси азота и ее метаболитов в медицине и сельском хозяйстве.....	106
<i>Тромза В.Е.</i> Анальгетическое действие WIN 55,212-2 и AM 1241 в тесте «отдергивания хвоста» на мышах.....	109

<i>Туманов А.В., Гольшико П.В., Виноградов В.В.</i> Морфология и функция щитовидной железы при гиперкортицизме	111
<i>Федосенко В.В., Шман Т.В., Савицкий В.П.</i> Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и апоптоза в лейкозных бластах до и после воздействия химиопрепарата <i>in vitro</i>	113
<i>Фоменко О.З., Ушакова Г.А.</i> Влияние хронического гепатита С на распределение нейроспецифических белков в мозге крыс.....	116
<i>Харченко О.Ф., Хоха Р.Н., Каленкович М.Н.</i> Антибактериальная терапия патологии респираторного тракта у детей: проблемы и вопросы.....	118
<i>Хорева С.А., Джуряева Е.И., Лукьянова М.Г., Тавгень О.И.</i> Нейрогуморальная регуляция процессов срочной адаптации организма к тестовым нагрузкам	120
<i>Церковский Д.А., Чалов В.Н., Истомин Ю.П.</i> Использование лазериндуцированной флуоресцентной спектроскопии <i>in vivo</i> для изучения динамики накопления фотосенсибилизатора фотолон в тканях головного мозга крыс.....	122
<i>Чиркин А.А., Коваленко Е.И., Буко В.У., Паршонок Д.И., Балаева-Тихомирова О.М., Толкачева Т.А.</i> Антиоксидантные и ростостимулирующие эффекты гидрофильных компонентов куколок дубового шелкопряда.....	124
<i>Шабанов П.Д., Лебедев А.А.</i> Экспериментальная модель форсированного введения психоактивных веществ для оценки поведенческих элементов лекарственной зависимости.....	127
<i>Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Корнилов В.А., Лавров Н.В., Любимов А.В., Яклашкин А.В.</i> Психофармакологический профиль ноотропоподобных пептидов: сравнение с классическими ноотропами.....	130
<i>Шилов Ю.В., Аксенова Н.В., Гребенюк А.Н.</i> Экспериментальная оценка эффективности интерлейкина-1 β для коррекции токсической лейкопении, вызванной 5-фторурацилом.....	133
<i>Юнусов И.А., Зарубина И.В.</i> Роль болевой чувствительности в патогенезе компрессионной травмы и ее лечении.....	135

Научное издание

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Материалы
3-й Международной научной конференции

(Минск, 23–24 июня 2009 г.)

Ответственный за выпуск:
Компьютерная верстка: Д.И. Демид
Дизайн обложки: Д.И. Демид

Подписано в печать 2009. Формат .
Бумага . Гарнитура . Печать .
Усл. печ. л. . Уч.-изд. л. . Тираж экз. Заказ .



Компания «Химхром» - официальный дилер корпорации Sigma-Aldrich, компании Greiner Bio-One (Германия), компания StemCell Technologies Inc. (Канада), Carl Roth (Германия) и др. Предлагаем широкий спектр химических реагентов, реактивов, пластиковой лабораторной и культуральной посуды, лабораторного оборудования ведущих мировых производителей.

Выполняем заказы от грамма до тонны.

Осуществляем оптовые поставки химикатов для производителей фармацевтических и ветеринарных препаратов, пищевых и косметических производств, диагностических центров.