

Научный журнал.

Основан в 2005 году Научным центром биомедицинских технологий РАМН

Подписной индекс 57995 в Каталоге «Издания органов научно-технической информации» ОАО «Роспечать»

Журнал включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (редакция – март 2010 года)

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Главный редактор:** Н. Н. Каркищенко, академик РАН, член-корреспондент РАМН,

Г. Д. Капанадзе (к.с.-х.н., зам. главного редактора),

В. Н. Каркищенко (д.м.н., проф.),

Ю. С. Макляков (д.м.н., проф.), Е. Л. Матвеевко (к.э.н., доц., ответственный секретарь),

А. Н. Мурашев (д.б.н., проф.), А. В. Муха (д.м.н., зам. главного редактора),

Г. В. Раменская (д.ф.н., проф.), А. О. Ревякин (к.б.н.), Д. В. Сахаров (к.б.н.),

Х. Х. Семенов (к.б.н.), Н. В. Станкова (к.б.н.), Д. А. Сычев (д.м.н., проф.),

В. В. Хоронько (д.б.н., проф.), Е. В. Ших (д.м.н., проф.)

## Редакционный совет:

prof. Hans-W. Ackermann (Канада), prof. Iorgen Backmen (Германия), проф. Е.Е. Ачкасов, акад. РАМН и РАСХН В.А.Быков, проф. Витан Влахов (Болгария), акад. РАМН А.М.Дыгай, prof. Ralf Edwards (Швеция), prof. Moineao S.-F. D'Herelle (Канада), акад. РАМН С.И. Колесников, акад. РАМН А.А.Кубатиев, акад. РАМН В.Г.Кукес, prof. Michael Orme (Великобритания), акад. РАН А.И.Мирошников, акад. РАН и РАМН М.А.Пальцев, акад. РАМН В.И.Петров, акад. РАМН К.В.Судаков, prof. Solemene Umberto (Италия), акад. РАМН В.П.Фисенко, член-корр. РАМН Д.Ф.Хритинин, проф. Б.Д.Цыганков, акад. РАМН В.Н.Ярыгин

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати

Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324

09.06.2005 г.

Охраняется Законом Российской Федерации № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 9 июля 1993 года и иными нормативно-правовыми актами. Воспроизведение всего издания, а равно его части (частей) без письменного разрешения издателя влечет ответственность в порядке, предусмотренном действующим законодательством.

## Адрес редакции:

105064, Москва

Малый Казенный пер. 5, стр. 1

matveyenkoel@mail.ru

Тел.: 561-52-64, 917-32-17

©2010, Научный центр биомедицинских технологий РАМН



## Содержание

### ОБЗОРЫ

- О. С. Сизова, Е. В. Ших, Н. Н. Потекаев**  
Фармакологическая регуляция активности СYP3A4 гепатопротекторами как перспективный путь уменьшения гепатотоксичности противогрибковых препаратов при лечении онихомикозов ..... 4
- Д. А. Сычев, В. В. Заева, Р. А. Чилова, Н. С. Семенов, В. Г. Кукес**  
Значение изучения системы биотрансформации и транспортеров для оптимизации применения противогрибковых препаратов ..... 16

### РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ

- Н. Ю. Корягина, Г. И. Пронина, А. О. Ревякин**  
Сравнительная характеристика альтернативных биомоделей по гематологическим и биохимическим показателям ..... 25

### ГЕНЕТИКА

- Д. П. Ромодановский, Б. А. Хапаев, И. В. Игнатъев, В. Г. Кукес, В. Н. Каркищенко**  
Частоты «медленных» аллельных вариантов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450 CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 у карачаевцев и черкесов ..... 33
- Х. Х. Семенов, Н. Н. Каркищенко, Г. Д. Капанадзе, А. А. Артюхов, А. А. Артюхов, Т. Б. Бескова, Е. Л. Матвеевко, А. О. Ревякин**  
Исследование влияния дифторида ксенона XeF<sub>2</sub> в дозе 12,5 мг/кг на развитие рака молочной железы мышей ..... 38

### ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- М. Б. Плотников, В. И. Смолякова, Г. А. Чернышева, И. С. Иванов, В. Ю. Лапицкий**  
Антиоксидеские, противоотечные и гемореологические свойства осмотического диуретика полиосма при остром отравлении изопропиловым спиртом ..... 46
- О. С. Борсук, Н. В. Масная, А. А. Чурип, Е. Ю. Шерстобоев**  
Доклинические исследования препаратов природного происхождения в условиях цитостатического воздействия ..... 53

### КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

- А. И. Ташенова, В. Г. Кукес**  
Полиморфизм гена MDR1, кодирующий гликопротеин-P и развитие серьезных нежелательных побочных реакций при применении блокаторов медленных кальциевых каналов ..... 65

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ХИРУРГИЯ

- Э. К. Гасанов, Е. В. Сагалова, А. В. Муха, С. Б. Трухманов**  
Предоперационная оценка параметров внешнего дыхания и показатели гемодинамики у телят для имплантации систем вспомогательного кровообращения ..... 70

# Content

## REVIEWS

- O. S. Sizova, E. V. Shih, N. N. Potekaev**  
Pharmacological regulation of CYP3A4 activity hepatoprotectors as a promising way to curb Hepatotoxicity antifungal medication in the treatment of Onychomycosis ..... 4
- D. A. Sychev, V. V. Zaeva, R. A. Chilova, N. S. Semenov, V. G. Kukes**  
Value of biotransformation and transporters system studying for optimization of antifungal drugs application ..... 16

## RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELING

- N. Ju. Koryagina, G. I. Pronina, A. O. Revyakin**  
Comparative characteristics of alternative biomodels on hematological and biochemical parameters ..... 25

## GENETICS

- D. P. Romodanovsky, B. A. Khapaev, I. V. Ignatiev, V. G. Kukes, V. N. Karkischenko**  
Frequencies the «slow» allele variants of the genes coding isoenzymes of cytochrome P450 CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 in Karachaevs and Circassians ..... 33
- H. H. Semenov, N. N. Karkischenko, G. D. Kapanadze, A. A. Artuhov, A. A. Artuhov, T. B. Beskova, E. L. Matveenko, A. O. Revyakin**  
Study of xenon difluoride influence on mammarian cancer growthin in mice ..... 38

## PRECLINICAL RAVESTIGATIONS

- M. B. Plotnikov, G. A. Chernisheva, V. I. Smoljakova, I. S. Ivanov, V. J. Lapitski**  
Antitoxic, antiedemic and hemorheological properties of osmolar diuretic polyosm in acute isopropanol intoxication ..... 46
- O. S. Borsuk, N. V. Masnaya, A. A. Churin, E. Y. Sherstoboev**  
Preclinical investigation of plants drugs in the conditions of cytostatic influence ..... 53

## CLINICAL PHARMACOLOGY

- A. I. Tashenova, V. G. Kukes**  
The polymorphism of gene MDR1 coding glycoprotein-P and development of serious adverse drug reactions at application of slow calcium channels blockers ..... 65

## EXPERIMENTAL SURGERY

- E. K. Gasanov, E. V. Sagalova, A. V. Mukha, S. B. Truchmanov**  
Preoperative estimation of external breath parameters and hemodynamics parameters at calve for implantation of assistant blood circulation systems ..... 70



## Фармакологическая регуляция активности СУР3А4 гепатопротекторами как перспективный путь уменьшения гепатотоксичности противогрибковых препаратов при лечении онихомикозов

О. С. Сизова, Е. В. Ших, Н. Н. Потекаев

*Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва  
Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская обл.*

*Контактная информация: Сизова Оксана Сергеевна тел. 8-926-187-88-66*

Противогрибковые азолы (итраконазол, флуконазол, кетоконазол и др.) широко применяются для лечения противогрибковых заболеваний, эффективность их доказана, однако назначение препаратов этой группы лимитируется развитием побочных эффектов, наиболее значимым из которых является гепатотоксичность. Противогрибковые препараты метаболизируются с помощью цитохрома СУР3А4 и сами являются не только субстратом, но и ингибитором этого цитохрома. Чем более длительно они применяются, тем ниже активность цитохрома, выше концентрация противогрибковых азолов и сильнее их гепатотоксичность. Клинически оправданным является назначение одновременно с противогрибковыми препаратами гепатопротекторов. Известно, что гепатопротекторы различаются по влиянию на активность цитохрома СУР3А4: не изменяют (например, силибинин); угнетают (например, зиксорин) и активируют (например, таурин). Рациональный выбор гепатопротектора с учетом его влияния на активность СУР3А4 дает возможность существенно снизить гепатотоксичность противогрибковых азолов. Фармакологическая регуляция активности СУР3А4 гепатопротекторами может быть использована в качестве перспективного направления профилактики нежелательных реакций.

**Ключевые слова:** онихомикоз, гепатопротектор, гепатотоксичность, метаболизм, цитохром СУР3А4, антимикотические препараты.

### **Гепатотоксичность как фактор, ограничивающий применение антимикотических препаратов**

Поражение кожи и ее придатков грибковой инфекцией остается одной из наиболее важных проблем дерматологии [2, 3, 13]. По данным литературы, грибковыми инфекциями поражен каждый 4-й житель планеты [13]. В нашей стране

инфицированность патогенными грибами составляет в среднем 30–40% [2].

Наиболее часто встречающейся формой грибковых инфекций является онихомикоз [10]. По данным ВОЗ (1992), микозами стоп страдают от 11,5 до 18% населения [2]. Это заболевание приводит к разрушению ногтевой пластинки, что, в свою очередь, ведет к появлению



тревоги, пониженной самооценке, снижению работоспособности [10, 12]. В связи с отсутствием субъективных ощущений при онихомикозах преобладает поздняя обращаемость пациента к врачу, когда поражение ногтей становится распространенным, а наружное лечение малоэффективно [4, 19]. Несмотря на возможности современной фармакотерапии, проблема лечения больных онихомикозом по-прежнему остается актуальной, так как нередко наблюдаются рецидивы заболевания. При выборе рациональной фармакотерапии для такой категории больных необходимо прежде всего учитывать ее терапевтическую эффективность, безопасность, способ применения и стоимость препаратов.

В настоящее время на вооружении микологов имеется широкий спектр противогрибковых препаратов системного и наружного действия в различных лекарственных формах (мази, кремы, растворы, лаки, пудра) [3, 19, 22]. Однако в клинической практике при лечении онихомикозов наиболее часто используются системные антимикотики. В настоящее время в арсенале современного врача для лечения больных онихомикозом имеется 3 высокоэффективных антимикотика системного действия: тербинафин, итраконазол [20, 23], флуконазол [14, 18] и ряд препаратов для местной терапии [12]. Несмотря на широкое применение системных антимикотических препаратов, высока вероятность развития побочных эффектов, преимущественно со стороны желудочно-кишечного тракта, варьирующих от слабовыраженных диспепсических явлений до развития fulminантных форм токсического гепатита [9]. Довольно часто больные с онихомикозами в качестве причин отказа от проведения системной антифунгальной

терапии называют опасения развития серьезных побочных действий и возможность получения осложнений при длительном приеме антимикотиков, в частности гепатотоксичности [11].

Доказано, что все противогрибковые препараты метаболизируются с помощью цитохрома СУР3А4 [6] и сами являются не только субстратом, но и ингибитором этого цитохрома. То есть, чем дольше они применяются, тем ниже активность цитохрома СУР3А4, выше концентрация противогрибковых препаратов и сильнее выражена их гепатотоксичность.

Одним из наиболее часто применяемых препаратов в практической микологии является итраконазол. Итраконазол – антимикотик широкого спектра действия, обеспечивающий возможность эффективной борьбы с грибковой инфекцией. Ингибирует синтез эргостерина клеточной мембраны грибов [23]. Препарат активен в отношении дерматофитов, дрожжеподобных и дрожжевых грибов, плесневых грибов. Итраконазол метаболизируется в печени с образованием активных метаболитов, в том числе гидроксиитраконазола [22]. Препарат является ингибитором изоферментов СУР3А4, СУР3А5 и СУР3А7. Имеет двойной путь выведения: почками и через кишечник.

Итраконазол в основном расщепляется ферментом СУР3А4. В связи с этим изменение активности этого фермента может повлиять на эффективность и безопасность длительного применения итраконазола. Итраконазол может сам ингибировать метаболизм препаратов, расщепляемых ферментом СУР3А4. Результатом этого может быть усиление или пролонгирование их действия, в том числе повышение риска развития нежелательных реакций [18].

При применении итраконазола описаны случаи тяжелой гепатотоксичности, включая острую и фатальную печеночную недостаточность у больных, которые ранее имели заболевание печени, лечились в связи с системными заболеваниями и/или применяли гепатотоксичные препараты. У некоторых пациентов не было явных факторов риска со стороны печени. Случаи гепатотоксичности при применении итраконазола наблюдаются на протяжении первого месяца лечения, в том числе и первых недель [23].

В связи с этим важное значение имеет контроль биохимических показателей крови для исключения токсического влияния препарата на функцию печени. При появлении признаков или симптомов гепатита, таких как анорексия, тошнота, рвота, усталость, абдоминальная боль, окраска мочи в темно-желтый цвет, необходимо срочно прекратить лечение и провести исследование функции печени. Пациентам с повышенной активностью печеночных ферментов, тяжелыми заболеваниями печени или тем, у которых имели место случаи гепатотоксичности при применении других препаратов, лечение рекомендуется не начинать, за исключением тех случаев, когда ожидаемый результат превышает риск нарушений со стороны печени. В таких случаях необходим мониторинг печеночных ферментов. У пациентов с циррозом печени или нарушениями функции почек биодоступность препарата может снижаться, поэтому может быть целесообразным коррекция дозы.

Таким образом, системные антимикотики являются препаратами выбора при лечении онихомикозов, однако применение их у такой категории больных лимитируется развитием возможных нежелательных явлений, в первую очередь,

гепатотоксичности. Для коррекции нежелательных явлений в клинической практике при лечении больных онихомикозами применяются гепатопротекторы.

### **Клинико-фармакологические аспекты применения гепатопротекторов при медикаментозных поражениях печени**

Гепатопротекторы – разнородная группа лекарственных средств, препятствующих разрушению клеточных мембран и стимулирующих регенерацию гепатоцитов [1]. К гепатопротекторам относятся лекарственные средства, обладающие способностью повышать устойчивость гепатоцитов к воздействию различных повреждающих агентов, усиливающие ее детоксицирующую (обезвреживающую) функцию посредством повышения активности ферментных систем и/или мембраностабилизирующего действия, а также способствующие восстановлению функциональной активности гепатоцитов после воздействия на них различных повреждающих факторов [11].

Гепатопротекторы препятствуют разрушению клеточных мембран, предотвращают повреждение печеночных клеток продуктами распада, ускоряют репаративные процессы в клетках, стимулируют регенерацию гепатоцитов, восстанавливают их структуру и функции [9]. Они применяются для лечения не только острых и хронических гепатитов, жировой дистрофии и цирроза печени, но и при лекарственных повреждениях печени, связанных с приемом лекарственных препаратов, в том числе системных антимикотиков [1].

Одним из ведущих патогенетических механизмов поражения гепатоцитов является избыточное накопление свободных радикалов и продуктов перекисно-

го окисления липидов при воздействии токсинов экзогенного и эндогенного происхождения, приводя, в конечном итоге, к повреждению липидного слоя клеточных мембран и разрушению клеток печени [11].

Лекарственные средства, применяемые для лечения заболеваний печени, обладают разными фармакологическими механизмами защитного действия. Гепатопротекторное действие большинства препаратов связывают с ингибированием ферментативного перекисного окисления липидов, с их способностью нейтрализовать различные свободные радикалы, оказывая при этом антиоксидантный эффект [1]. Другие препараты являются строительным материалом липидного слоя клеток печени, оказывают мембраностабилизирующий эффект и восстанавливают структуру мембран гепатоцитов [11]. Третьи индуцируют микросомальные ферменты печени, повышают скорость синтеза и активность этих ферментов, способствуют усилению биотрансформации веществ, активируют метаболические процессы, что способствует быстрому выведению из организма чужеродных токсичных соединений [5]. Четвертые препараты обладают широким спектром биологической активности, содержат комплекс витаминов и незаменимых аминокислот, повышают устойчивость организма к воздействию неблагоприятных факторов, уменьшают токсические эффекты, в том числе и после принятия алкоголя, и др. [5].

Основные требования к идеальному гепатопротектору были сформулированы R. Preisig еще в 1970 г.: достаточно полная абсорбция; наличие эффекта «первого прохождения» через печень; выраженная способность связывать или предотвращать образование высоко-

коактивных повреждающих соединений; возможность уменьшать чрезмерно выраженное воспаление; подавление фиброгенеза; стимуляция регенерации печени; естественный метаболизм при патологии печени; экстенсивная энтерогепатическая циркуляция; отсутствие токсичности.

К сожалению, на сегодняшний день ни один из используемых в медицинской практике гепатопротекторов не удовлетворяет в полной мере этим требованиям, хотя в последние годы арсенал современных гепатозащитных средств расширился за счет появления как синтетических препаратов, так и новых природных средств [11].

Выделить препараты с каким-то одним механизмом действия очень трудно, как правило, эти препараты обладают одновременно несколькими из перечисленных выше механизмов. Общепринятой классификации гепатопротекторов не существует. В зависимости от происхождения они подразделяются на препараты: растительного происхождения, синтетические лекарственные средства, вещества животного происхождения, гомеопатические и биологически активные добавки к пище. По составу их различают на монокомпонентные и комбинированные.

#### **Рабочая классификация гепатопротекторов**

- Препараты, содержащие естественные или полусинтетические флавоноиды расторопши:
  - гепабене, легалон, карсил, гепатофальк-планта, силибор.
- Препараты, содержащие естественные или полусинтетические флавоноиды других растений:
  - хофитол, катерген (цианиданол), ЛИВ-52 (гепалив).

- Органопрепараты животного происхождения:  
сирепар, гепатосан.
- Препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды:  
эссенциале, фосфоглив, эсливер, эплир.
- Препараты разных групп:  
бемитил, адеметионин (гептрал), кислота липоевая (тиоктацид), гепамерц (орнитин), урсодеоксихолевая кислота (урсофальк), нестероидные анаболики (метилурацил, пентоксил, натрия нуклеинат).

Однако независимо от классификации существенное значение имеет способность всех гепатопротекторов предотвращать повреждение гепатоцитов (печеночных клеток) продуктами распада, повышать устойчивость печени к токсическим воздействиям антибиотиков, системных антимикотиков и других препаратов. Данные по клинической эффективности гепатопротекторов при различных формах поражения печени, в том числе и лекарственных, противоречивы.

Несмотря на многолетний клинический опыт, показания к применению гепатопротекторов до сих пор четко не изучены. Большое внимание в современной клинической практике уделяется гепатопротекторам растительного происхождения. Преимуществом лекарственных препаратов из природного растительного сырья является низкая токсичность, возможность длительного применения без существенных побочных эффектов. Растительные гепатопротекторы значительно различаются по своему химическому составу и оказывают разнообразное воздействие на метаболические процессы.

В связи с этим, важное значение при оценке эффективности и безопасности

лекарственных средств (ЛС) имеет их взаимодействие на уровне метаболизма. Под взаимодействием ЛС понимают изменение эффективности и безопасности одного ЛС при одновременном или последовательном его применении с другим ЛС. Взаимодействие ЛС, приводящее к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии, лежит в основе рационального комбинирования ЛС.

### **Взаимодействие противогрибковых препаратов на уровне метаболизма**

По механизму различают фармакокинетическое и фармакодинамическое взаимодействия лекарственного средства [6, 7]. Под фармакокинетическим взаимодействием понимается влияние одного лекарственного средства на фармакокинетические процессы другого [8]. Результатом фармакокинетического взаимодействия является изменение концентрации лекарственного средства в плазме крови [6].

Фармакокинетическое взаимодействие лекарственного средства может происходить на разных уровнях: всасывание (изменение pH желудочного содержимого, изменение моторики ЖКТ, влияние на активность гликопротеина Р), распределение (на уровне связи с белками крови), метаболизм (индукция и ингибирование ферментов метаболизма) и выведение (изменение клубочковой фильтрации, изменение канальцевой секреции, изменение канальцевой реабсорбции) [7]. Из вышеперечисленного наиболее значимым и наиболее изученным представляется взаимодействие на уровне метаболизма лекарственного средства [8].

В настоящее время известно более 300 лекарственных средств, влияющих



на метаболизм других лекарственных средств [5]. Индукции и ингибированию могут подвергаться как ферменты I фазы метаболизма (изоферменты цитохрома P450), так и ферменты II фазы (УДФ-глюкуронилтрансфераза и др.). Роль цитохромов P450 в метаболизме лекарственных соединений неоднозначна [5]. Цитохромы P450 гидроксилируют лекарства, делая их более гидрофильными и способствуя выведению их из организма. Кроме того, метаболиты лекарственных соединений могут быть в свою очередь еще более эффективными лекарственными веществами [8].

Для прогнозирования фармакокинетического межлекарственного взаимодействия применительно к конкретным лекарственным средствам необходимо, в частности, знать, является ли лекарственное средство субстратом гликопротеина P, какие ферменты I фазы (изоферменты цитохрома P450) метаболизируют эти лекарственные средства, какие транспортеры участвуют в его выведении [5]. Среди ферментов I фазы метаболизма изофермент CYP3A4 метаболизирует около 60% всех известных лекарственных средств [6]. К ингибиторам этого изофермента относятся азоловые противогрибковые средства, при их приеме метаболизм субстратов CYP3A4 замедляется, так что лекарственное средство-субстрат способно накапливаться в организме и вызывать нежелательные лекарственные реакции [7, 8].

Все антифунгальные азолы метаболизируются с использованием системы цитохрома P450 [6]. Системой цитохрома P450 обозначают группу гемсодержащих изоферментов (CYP), находящихся на мембране гладкого эндоплазматического ретикулума, главным образом, в печени и тонкой кишке. Система изофер-

ментов цитохрома P450 играет важную роль в метаболизме многих эндогенных субстанций (стероиды, гормоны, простагландины, липиды и жирные кислоты) и в детоксикации эндогенных компонентов (особенно после перорального применения).

Все препараты можно разделить на три группы по отношению к системе цитохрома P450: субстраты, индукторы и ингибиторы этой системы [8]. Субстратами являются препараты, метаболизирующиеся под каталитическим действием ферментов системы цитохрома P450. Большинство препаратов метаболизируется преимущественно одним ферментом P450 [5]. Мнения различных авторов о влиянии противогрибковых препаратов на систему цитохрома P450 неоднозначно [7]. Так, в ряде работ указано, что кетоконазол и итраконазол – субстраты системы цитохрома P450. По мнению других авторов, кетоконазол и итраконазол, напротив, являются выраженными ингибиторами системы цитохрома P450.

Ингибиторы P450 – это препараты, которые подавляют метаболизм P450-субстратов; процесс носит конкурентный и обратимый характер – как только происходит отмена ингибитора, метаболизм возвращается к нормальному. Лекарственные препараты могут быть и ингибиторами ферментов цитохрома P450 [6]. Например, флуконазол является слабым P450 ингибитором, но он не P450-субстрат и выделяется, главным образом, через почки.

Индукторы P450 – препараты-индукторы увеличивают количество изоферментов P450 *in vivo*. Этот процесс связан с активацией синтеза ферментов. В отличие от действия ингибиторов, индукция длится несколько дней

даже после отмены индуцирующего препарата. Из антифунгальных препаратов индуктором P450 является гризеофульвин. Большинство препаратов элиминируется из организма через печень и почки. Лишь небольшое число их выводится другим путем.

Все три азола (кетоназол, флуконазол и итраконазол), используемые в антифунгальной терапии, могут блокировать метаболизм препаратов, которые используют изофермент CYP3A4 как субстрат [6]. Так, например, 99% поступающего в организм терфенадина метаболизируется изоферментом CYP3A4 [8]. Этот изофермент обладает значительной вариабельностью экспрессии и отвечает за 10–60% общей активности цитохрома P450 в печени. Кетоназол и итраконазол могут вызвать удлинение интервала QT на ЭКГ, когда их используют с астемизолом и терфенадином.

### **Возможности фармакологической регуляции активности CYP гепатопротекторами**

По существу, гепатопротекторное воздействие направлено на оптимизацию репаративных процессов в печени. Усиление детоксикационной функции печени достигается за счет повышения активности ферментных систем – монооксигеназной (цитохрома P450 и других микросомальных энзимов) и др. Известным является факт различного влияния гепатопротекторов на активность изофермента цитохрома P450 3A4 [7], однако рекомендации по рациональному выбору препаратов этой группы в зависимости от влияния их на активность ферментов системы метаболизма отсутствуют.

Все гепатопротекторы можно поделить на три группы по влиянию их на

активность цитохрома P450 3A4: не изменяют (например, силибинин); угнетают (например, зиксорин) и активируют (например, таурин) [16]. Таким образом, можно предположить, что за счет регуляторного влияния таурина на активность CYP3A4 можно существенно снизить гепатотоксичность азолов.

Гепатопротекторными свойствами в той или иной степени обладают различные вещества, улучшающие метаболические процессы в организме, например витамины, ингибиторы перекисного окисления липидов, а также антигипоксанты (препараты эссенциале, дипромоний и др.). В качестве селективных гепатопротекторов в медицинской практике применяют некоторые препараты флавоноидной структуры (силибинин, силибор и др.), близкие по структуре к витаминам группы B, и растительные средства (ЛИВ-52, валилив и др.).

Наиболее часто среди гепатопротекторов растительного происхождения применяется силимарин, который представляет собой экстракт расторопши пятнистой (*Silybum marianum*) – растения из семейства сложноцветных [15]. Его активные компоненты включают 4 флавоноида, основным из которых является силибинин. Последний составляет 80–90% экстракта, химический состав остальных компонентов не определен. Фармакокинетические исследования показали, что после приема внутрь силибинин быстро всасывается, период полувыведения составляет 6 ч. Эксперименты на животных показали, что силимарин обладает свойствами антиоксиданта и предупреждает истощение запасов глутатиона, а также предотвращает повреждения печени, вызываемые бледной поганкой, четыреххлористым углеродом и парацетамолом. Кроме того,

считается, что силимарин тормозит развитие фиброза.

На экспериментальных моделях продемонстрировано уменьшение под влиянием силимарина скорости фиброзной трансформации ткани печени, что связывается как с повышением клиренса свободных радикалов, так и с непосредственным подавлением синтеза коллагена.

В противоположность экспериментальной, клиническая эффективность силимарина практически не подтверждена из-за недостатка адекватных исследований. Во многих испытаниях участвовали больные острым вирусным гепатитом, при котором очень часто наблюдается спонтанное выздоровление. Кроме того, результаты многих работ опубликованы в журналах не на английском языке, которые обычно не индексируются Pubmed и Medline. Наконец, фармакокинетические исследования различных препаратов силимарина обнаружили значительные колебания его пиковой концентрации. Несмотря на эти ограничения, данный препарат широко применяется в развитых странах.

Результаты большинства исследований по изучению силимарина при алкогольных поражениях печени (АПП) трудно интерпретировать вследствие гетерогенности групп пациентов и отсутствия стратификации по тяжести заболевания. Кроме того, наблюдение во многих исследованиях не предусматривало изучения биоптатов печени, как и оценки воздержания от алкоголя по объективным критериям. В крупнейшем из этих исследований 170 больных циррозом печени (подтвержденным гистологическим исследованием биоптатов в 70% случаев: 92 – АПП и 78 – другие заболевания) рандомизировали для получения силимарина (420 мг/сут; n=87)

или плацебо (n=83) в течение 2–6 лет (в среднем 41 мес.). В группе силимарина биохимические параметры не претерпели статистически значимых изменений, но выживаемость повысилась (77 vs 67% через 2 года; 58 vs 39% через 4 года), особенно у больных с печеночной недостаточностью класса А по классификации Чайлд–Пью.

Другие исследователи получили противоположный результат: в группах силимарина и плацебо выживаемость была близкой (17 vs 12% через 2 года; 19 vs 16% через 5 лет), 75% летальных исходов были прямо связаны с заболеванием печени. Таким образом, до настоящего момента нет данных в пользу применения силимарина при АПП несмотря на безопасность этого препарата.

Влиянию силимарина (420 мг) на первичный билиарный цирроз посвящено всего лишь одно исследование (27 больных, у которых не было получено биохимического ответа на урсодезоксихолевую кислоту). Через 1 год наблюдения не зарегистрировано статистически значимого улучшения биохимических показателей функции печени или индекса риска Мейо. К тому же исследование имело ряд недостатков: плохой дизайн, малый объем выборки и короткий период наблюдения.

Таким образом, опыт применения силибинина в основном ограничивается АПП, работ по изучению его эффективности при снижении побочных эффектов лекарственных препаратов совсем немного. Так, в частности, в экспериментальных и клинических исследованиях показано, что силимарин обладает гепатопротективным свойством в отношении ряда лекарственных средств и токсинов. Согласно ретроспективному анализу, включившему 205 больных с

отравлением бледной поганкой, в подгруппе из 30 больных, которые получали силимарин в/в, летальность оказалась ниже (12,8 vs 22,4%). В другом неконтролируемом исследовании (n=60) больным в/в вводили силимарин (20 мг/кг в сутки) в пределах 24–36 ч от употребления в пищу бледной поганки; все из них выжили. Другие исследования, в которых оценивалась способность силимарина противодействовать влиянию иных токсинов и лекарственных средств, включали очень малое число больных и дали противоречивые результаты.

Таким образом, в основе гепатопротекторного действия силимарина (легален) лежит способность препарата нейтрализовать свободные радикалы кислорода в тканях печени и тем самым препятствовать разрушению ее клеточных структур. Помимо этого препарат обладает способностью активировать фермент РНК-полимеразу и тем самым стимулировать синтез структурных и функциональных белков в поврежденных гепатоцитах. Силимарин стабилизирует клеточные мембраны гепатоцитов, ускоряет репаративные (от лат. *reparatio* – восстановление, возобновление – восстановление исходной структуры) процессы в тканях печени. Имеются данные о том, что силимарин замедляет проникновение в клетки печени некоторых гепатотоксичных соединений. В настоящее время известно несколько гепатопротекторов, синтезированных на основе силимарина.

Обобщая имеющиеся результаты доказательной медицины по эффективности силимарина, можно констатировать, что накоплено достаточно экспериментальных данных, чтобы уверенно рекомендовать дальнейшее его изучение не только при хронических заболеваниях

печени, в том числе при жировой дистрофии неалкогольной этиологии, но для снижения гепатотоксичности лекарственных препаратов, таких как системные антимикотики.

Еще одним гепатопротектором растительного происхождения, влияющим на оксидазную ферментативную активность микросом печени, является флумецинол (синонимы: *Flumecinol*, *Synklit*, *Zixorin*). Наиболее хорошо изученным в клинической практике является зиксорин. Зиксорин усиливает образование глюкуронидов, способствует выведению из организма эндогенных и экзогенных метаболитов, увеличивает выделение желчи. Более того, относительно избирательно действует на микросомальные ферменты. Зиксорин хорошо всасывается при приеме внутрь, метаболизируется в печени, метаболиты выделяются с мочой и калом. Применяют при функциональной гипербилирубинемии, у больных хроническими диффузными заболеваниями печени, при желтухах, обусловленных энзимопатиями, доброкачественным внутрипеченочным холестазом [21].

Имеются данные об эффективности флумецинола в комплексной терапии кожных заболеваний (псориаз, атотический дерматит). Мнения авторов о влиянии флумецинола на активность ферментов СУР3А4 неоднозначны. По мнению некоторых авторов, флумецинол в связи с активацией ферментов печени может ускорить метаболизм применяемых одновременно других лекарственных средств, в частности, есть сообщения о совместном применении с системными противогрибковыми препаратами.

Большой интерес клиницистов в последнее время отводится таурину [16, 17, 21]. Таурин является естественным про-

дуктом обмена серосодержащих аминокислот: цистеина, цистеинамина, метионина. Таурин – жизненно необходимая сульфаминокислота, которая была найдена практически у всех видов животных.

Таурин находится в организме животных в разных состояниях. В соединении с холевыми кислотами он влияет на желчевыделение, участвует в обмене холестерина, во всасывании жирорастворимых соединений и витаминов. Остальной таурин представлен в свободном, в несвязанном виде. Этот таурин участвует во внутриклеточной регуляции осмотического давления, влияет на фосфолипидный состав мембраны и регулирует внутриклеточную концентрацию ионов кальция. Но, оказывается, что не весь таурин, несоединенный с холевыми кислотами, пребывает несвязанным.

Известно, что запас желчных кислот в организме, если речь идет о норме, постоянный и равен приблизительно 3 г. Заболевания, связанные с дисфункцией печени, могут вносить свои коррективы в общий пул желчных кислот. Это может быть обусловлено нарушением синтеза в печени и/или ресорбции в кишечнике.

Результаты экспериментальных данных показали, что реперфузионная ишемия печени обусловлена не только травмой печени, но и эндоксемией, которая усугубляет *Nit*-индуцированные повреждения печени и дисфункцию, или даже может быть причиной печеночной недостаточности. Применение таурина приводило к защите печени от ишемии и реперфузии. Таким образом, результаты данного исследования подчеркнули возможность потенциального использования таурина в защите печени от эндотоксина, вызванного травмой, особенно после *Hir*-индуцированного повреждения печени. Гепатопротектор-

ное действие таурина, полученное в эксперименте, можно объяснить его противовоспалительным, антиокислительным и антиапоптотическим эффектами [24].

Кроме того, таурин защищает гепатоциты при различных воздействиях: при диете с высоким содержанием холестерина, при отравлении эндотоксином, этанолом, четыреххлористым углеродом, циклоспорином. Таурин уменьшает пролиферацию, оксидативный стресс и фиброгенез.

Полученные в эксперименте данные о положительном влиянии таурина на функцию печени послужили основанием для синтеза лекарственных препаратов, обладающих гепатопротекторным действием. Одним из таких новых перспективных гепатопротекторов, синтезированным на основе таурина, является отечественный препарат дибикор. Предполагается, что дибикор обладает гепатопротекторными свойствами при дислипидемиях различного генеза; заболеваниях печени, протекающих с жировой инфильтрацией гепатоцитов; хронических интоксикациях печени, вызванных  $CCl_4$ , гликозидами и другими лекарствами (ЛПП – лекарственное поражение печени). Опыт применения дибикора у больных хроническим персистирующим гепатитом показал, что препарат в дозе 0,5 г 2 раза в день приводил к значительному улучшению печеночного кровотока и уменьшению цитолитического воспалительного синдрома. Продолжительность лечения составляла от 8-ми дней до 3-х недель. Аналогичные результаты были получены сотрудниками Волгоградского медицинского университета, которые показали, что после курса терапии дибикором длительностью 21 день в дозе 1 г в сутки отмечалось значительное клиниче-



ское улучшение у больных, страдающих хроническим активным гепатитом. Эти данные подтверждают известное из научной литературы защитное действие таурина на печень и расширяют клиническое применение дибикора и возможность его использования в качестве гепатопротектора.

### Заключение

Таким образом, противогрибковые препараты метаболизируются с помощью цитохрома СУР3А4 и сами являются не только субстратом, но и ингибитором этого цитохрома. Чем более длительно они применяются, тем ниже активность цитохрома, выше концентрация противогрибковых азолов и сильнее их гепатотоксичность. Противогрибковые азолы, (итраконазол, флуконазол, кетоконазол и др.) применяются очень широко для лечения противогрибковых заболеваний, эффективность их доказана, одна-

ко назначение препаратов данной группы лимитируется развитием побочных эффектов, наиболее значимым из которых является гепатотоксичность. С этой точки зрения, клинически оправданным является назначение одновременно с противогрибковыми препаратами гепатопротекторов. В настоящее время известным является факт, что гепатопротекторы различаются по влиянию на активность цитохрома СУР3А4: не изменяют (например, силибинин); угнетают (например, зиксорин) и активируют (например, таурин). Можно предположить, что рациональный выбор гепатопротектора с учетом его влияния на активность СУР3А4 даст возможность существенно снизить гепатотоксичность противогрибковых азолов. Фармакологическая регуляция активности СУР3А4 гепатопротекторами может быть использована в качестве перспективного направления профилактики нежелательных реакций.

### Список литературы

1. **Буевров А.О.** Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени//Болезни органов пищеварения. 2001. №2. С. 16–18.
2. **Васенова В.Ю., Буттов Ю.С.** Некоторые аспекты эпидемиологии, патогенеза и терапии онихомикозов//Рос. журн. кожн. и вен. бол. 2005. №3. С. 42–44.
3. **Дубенский В.В.** Современный взгляд на проблему онихомикозов//Клиническая дерматология и венерология. 2004. № 3. С. 11–15.
4. **Иванов О.Л., Полунина С.С.** Что мы знаем о современных антимикотиках? От молекулярной структуры к терапевтическим свойствам// Рос. журн. кожн. и вен. бол. 2007. №4. С. 58–62.
5. **Клиническая фармакология.** Под ред. В.Г. Кукеса. М., 1991. С. 342–344.
6. **Кукес В.Г., Сычев Д.В., Раменская А. и др.** Оценка активности изофермента цитохрома Р450 3А4 (СУР3А4) как реальная возможность персонализации фармакотерапии //Врач. 2008. № 3. С. 13–19.

7. **Кукес В.Г.** Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. М.: Реафарм, 2004. 144 с.
8. **Кукес В.Г., Фисенко В.П., Стародубцев А.К., Раменская Г.В., Сычев Д.А., Андреев Д.А., Рейхарт Д.В.** Метаболизм лекарственных препаратов Под ред. академика РМН, проф. Кукеса В.Г., чл.-корр. РАМН, проф. Фисенко В.П. М.: Палея-М., 2001.
9. **Курдина М.И., Иваников И.О., Сюткин В.Е.** Системные антимикотики при дерматомикозах и патологии гепатобилиарной системы. Пособие для врачей. М., 2004. 156 с.
10. **Лещенко В.М.** Современные антимикотики в дерматологии//Consilium medicum, 2004. С. 186–191.
11. **Минушкин О.Н.** Некоторые гепатопротекторы в лечение заболеваний печени // Лечащий врач. 2002. №6. С. 55–58.
12. **Новоселов В. С., Новоселов А. В.** Рациональные подходы к терапии поверхност-

ных микозов//Consilium Medicum, приложение Дерматология. 2007. №1. С. 24–27.

13. *Сергеев Ю. В., Сергеев А. Ю.* Онихомикозы. Грибковые инфекции ногтей. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. 128 с.

14. *Anaissie E.J., Kontoyannis D.P. et al.* Safety plasma concentration And efficacy of high-dose fluconazole in invasive mold infection//J. Infect. Dis. 1995. Vol. 172. P. 599–602.

15. *Campos R., Garrido A., Giuerra R., Valenruela A.* Sylibinin dihemisuccinate protects against depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver//Planta Medica. 1989. Vol. 55. P. 417–419.

16. *Chen S. W., Chen Y. X., Shi J., Lin Y., Xie W. F.* The restorative effect of taurine on experimental nonalcoholic steatohepatitis//Dig. Dis. Sci. 2006, Dec. Vol.51, №12. С. 222–34.

17. *Chen W., Matuda K., Nishimura N., Yokogoshi H.* The effect of taurine on cholesterol degradation in mice fed a high-cholesterol diet//Life Sci. 2004, Feb. 27. Vol.74, №15. P. 1889–1898.

18. *Chin T., Fong I.W., Vandenbroucke A.* Pharmacokinetic of fluconazole in serum and cerebrospinal fluid in a patient with AIDS and cryptococcal meningitis//Pharmacotherapy. 1990. Vol.10, №4. P. 305–307.

19. *Como J. A., Dismukes W. E.* Oral azole drugs as systemic antifungal therapy//N. Engl. J. Med. 1994. Vol.330. P. 263–272.

20. *Cooker P. J, Tomlinson D. R., Parking J. et al.* Interaction between itraconazole and rifampicin//B.M.J. 1991. Vol.301. P. 818.

21. *Dincer S., Ozenirler S., Oz E., Akyol G., Ozogul C.* The protective effect of taurine pretreatment on carbon tetrachloride-induced hepatic damage--a light and electron microscopic study//Amino Acids. 2002, Jun. Vol.22, №4. P. 417–26.

22. *Doncker P.* Intermittent Pulse Therapy with Itraconazole for the Treatment of Onychomycosis. 1995.

23. *Elewski B. E.* Efficacy of itraconazole oneweek therapy in tinea corporis and cruris//At the 5th Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology. Lisbon. 1996. P. 1213.

24. *Erman F., Balkan J., Cevikbas U., Kocak-Toker N., Uysal M.* Betaine or taurine administration prevents fibrosis and lipid peroxidation induced by rat liver by ethanol plus carbon tetrachloride intoxication//Amino Acids. 2004, Oct. Vol.27, №2. P. 199–205. Epub. 2004. Aug 26.

## Pharmacological regulation of CYP3A4 activity hepatoprotectors as a promising way to curb Hepatotoxicity antifungal medication in the treatment of Onychomycosis

O. S. Sizova, E. V. Shih, N. N. Potekaev

Antifungal azoles (itraconazole, fluconazole, ketoconazole, etc.) are widely used for antifungal treatment of diseases, their effectiveness is proved, but the purpose of this group of drugs is limited by the development of side effects, the most significant of which is hepatotoxic. Antifungal drugs are metabolized by cytochrome CYP3A4, and are themselves not only a substrate but an inhibitor of the cytochrome. The more long-term they used, the lower the activity of cytochrome, the higher the concentration of antifungal azoles and stronger than their hepatotoxicity. Clinically justified the appointment together with antifungal drugs hepatoprotectorov. It is known that hepatoprotectors differ on the effect on the activity of cytochrome CYP3A4: do not change (e.g., silibinin), depress (e.g., zikсорin) and activated (e.g., taurine). Rational choice hepatoprotector taking into account its effect on the activity of CYP3A4 makes it possible to significantly reduce the hepatotoxicity of antifungal azoles. Pharmacological regulation of the activity of CYP3A4 by hepatoprotectors can be used as a promising area of prevention of unwanted reactions.

**Key words:** onychomycosis, hepatoprotectors, hepatotoxicity, metabolism, cytochrome CYP3A4, antifungal drugs.

## Значение изучения системы биотрансформации и транспортеров для оптимизации применения противогрибковых препаратов

Д. А. Сычев, В. В. Заева, Р. А. Чилова, Н. С. Семенов, В. Г. Кукес

*Институт клинической фармакологии ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора, Москва  
Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва  
Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская обл*

*Контактная информация: Сычев Дмитрий Алексеевич, e-mail: elmed@yandex.ru*

---

Противогрибковые препараты часто применяются в клинической практике из-за высокой распространенности грибковых инфекций. Противогрибковые препараты метаболизируются системой биотрансформации и транспортеров, а также могут влиять на ее активность. В обзоре обсуждается клиническое значение взаимодействия противогрибковых препаратов с другими лекарственными средствами и фармакогенетические основы их безопасности на уровне изоферментов цитохрома P450 и P-гликопротеина.

**Ключевые слова:** противогрибковые препараты, биотрансформация, изоферменты цитохрома P450, P-гликопротеин, нежелательные лекарственные реакции, фармакогенетика.

---

В настоящее время противогрибковые препараты являются наиболее часто назначаемыми лекарственными средствами в акушерско-гинекологической практике, что, прежде всего, связано с высокой распространенностью грибковых инфекций женской половой сферы и прежде всего вагинального кандидоза. Широкое применение, часто бесконтрольное, противогрибковых препаратов может приводить к развитию нежелательных лекарственных реакций (НЛР), в результате межлекарственного взаимодействия или на основе фармакогенетических особенностей пациента.

В клинической практике врачу наиболее часто приходится сталкиваться с ситуациями, когда пациенту необходимо назначать одновременно несколько лекарственных средств (ЛС). Главной предпосылкой к этому является наличие у женщины нескольких заболеваний, на-

пример грибковое поражение половых органов и экстрагенитальная соматическая патология. При этом противогрибковые препараты могут взаимодействовать с другими ЛС. Под *взаимодействием ЛС* понимается изменение эффективности и безопасности одного ЛС при одновременном или последовательном его применении с другим ЛС. В основе *потенциально опасных комбинаций ЛС* лежат взаимодействия ЛС, приводящие к снижению безопасности фармакотерапии, т.е. к повышению риска развития НЛР [1, 2, 3, 4]. Кроме того, НЛР, возникающие при применении потенциально опасных комбинаций, также представляют собой серьезную экономическую проблему, так как расходы на их лечение составляют половину от затрат на терапию всех лекарственных осложнений. При этом различают два вида межлекарственного взаимодействия: фармакодинамическое

и фармакокинетическое. Под *фармакодинамическим взаимодействием* понимается влияние одного ЛС на процесс генерации и реализации фармакологического эффекта другого. Чаще всего при фармакодинамическом взаимодействии одно ЛС вмешивается в механизм действия другого. Под *фармакокинетическим взаимодействием* понимается влияние одного ЛС на фармакокинетические процессы другого ЛС: всасывание, распределение, метаболизм, выведение [1, 2, 4]. Следует отметить, что для противогрибковых препаратов наибольшее клиническое значение имеет именно фармакокинетическое взаимодействие. Потенциально фармакокинетические взаимодействия ЛС могут происходить при их всасывании, распределении, метаболизме (биотрансформации) и выведении [4]. При этом важно отметить, что основой для взаимодействия противогрибковых препаратов с другими ЛС является способность противогрибковых препаратов ингибировать активность некоторых изоферментов цитохрома P450 и специфического транспортера ЛС – Р-гликопротеина [4].

В этой статье мы остановимся на клиническом значении ингибирующего дей-

ствия противогрибковых препаратов на цитозферменты цитохрома P450, которое является клинически значимым свойством данной группы ЛС. *Изоферменты цитохрома P450* катализируют реакции I фазы биотрансформации (окисление). Наибольшую роль в биотрансформации ЛС играют изоферменты CYP3A4 (блокаторы медленных кальциевых каналов, блокаторы H<sub>1</sub>-гистаминовых рецепторов, циклоспорин, оральные контрацептивы, глюкокортикостероиды), CYP2D6 (бета-адреноблокаторы, антипсихотические ЛС, антидепрессанты), CYP2C9 (непрямые антикоагулянты, НПВС, антагонисты ангиотензиновых рецепторов), CYP2C19 (блокаторы протонного насоса, противосудорожные ЛС), CYP2E1 (парацетамол) [4, 13, 15]. Ингибиторы изоферментов цитохрома P450, наоборот, замедляют биотрансформацию ЛС, что приводит к повышению их концентрации и повышению риска развития НЛР [4, 15]. Противогрибковые препараты, применяемые в гинекологической практике для лечения вагинального кандидоза, являясь мощными ингибиторами некоторых изоферментов цитохрома P450 (табл. 1), могут повышать концен-

Таблица 1

**Ингибирующее влияние противогрибковых препаратов на изоферменты цитохрома P450 [4, 13, 15]**

Лекарственное средство	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP2E1	CYP3A4
Флуконазол	–	X	X	–	–	X
Итраконазол	–	X	X	–	–	X
Кетоконазол	X	X	X	X	X	X
Микофунгин	–	–	–	–	–	X
Миконазол	X	X	X	X	X	X
Вариконазол	–	X	X	–	–	X
Примечание: «X» – ингибирует изофермент цитохрома P450, «–» – не влияет на изофермент цитохрома P450.						

трацию целого ряда широко применяемых ЛС путем угнетения их биотрансформации в печени [4, 15]. Причем это может происходить не только при системном применении противогрибковых препаратов (перорально или парентерально), но и при местном – интравагинальном их применении, так как и при этом имеет место всасывание препаратов со слизистой и их попадание в системный кровоток. Приведем несколько примеров. Так, флуконазол, являясь ингибитором CYP2C9, почти в 3 раза удлиняет период полувыведения непрямого антикоагулянта варфарина, увеличивая риск развития кровотечений на фоне чрезмерной гипокоагуляции [13]. Аналогичным образом флуконазол за счет ингибирования CYP3A4 более чем в 2 раза удлиняет период полувыведения транквилизатора мидозалама, что проявляется более выраженным снотворным эффектом [4, 13]. Кроме того, противогрибковые препараты повышают до токсических значений пероральные гипокликемические препараты (толбутамид и др.), иммуносупрессоры (циклоспорин, такролимус), домперидона [11, 13]. Еще более опасными оказались взаимодействия противогрибковых препаратов с гиполипидемическими препаратами из группы статинов, а также блокаторами  $H_1$ -гистаминовых рецепторов [14]. Именно подобное взаимодействие на уровне CYP3A4 и было причиной развития многочисленных серьезных НЛР, даже смертельных, при применении в клинической практике разрешенных официальными структурами таких ЛС, как терфенадин, астемизол, цизаприд (аритмии по типу «пируэт», цери-вастатин (рабдомиолиз), что послужило причиной снятия их с регистрации, следствием чего явились огромные эко-

номические потери для фармацевтических компаний [4, 13].

На кафедре клинической фармакологии ММА им. И. М. Сеченова были проведены исследования, посвященные изучению клинического значения ингибирующего влияния противогрибкового препарата флуконазола на CYP3A4 [5, 6]. Для этого была разработана методика, позволяющая оценивать активность CYP3A4 и основанная на определении концентрации метаболита лидокаина MEGX через 30 минут после внутривенного введения лидокаина в дозе 1 мг/кг (т.н. MEGX-тест) [5, 6]. Было изучено влияние флуконазола на биотрансформацию лидокаина и нифедипина, которые метаболизируются под влиянием CYP3A4. С этой целью испытуемым, по показаниям принимавшим нифедипин (20 мг/сутки) и флуконазол (150 мг/сутки), проводился постоянный контроль за концентрацией нифедипина и его основного метаболита, а также проводился MEGX-тест. Контрольную группу составляли испытуемые, принимавшие только нифедипин, которым также проводился MEGX-тест. Были получены следующие результаты. Значения концентраций MEGX у пациентов, не получавших флуконазол, не изменились. У пациентов, которые получали флуконазол в течение 7 дней, концентрация MEGX статистически достоверно снизилась после приема флуконазола, что подтверждает тот факт, что флуконазол, ингибируя CYP3A4, участвующий в превращении нифедипина в MEGX, приводит к снижению его концентрации. Кроме того, полученные данные показывают, что ингибирование наступает довольно быстро (за 7 дней уровень MEGX уменьшается в среднем на 20%). Также у испытуемых, принимавших флуконазол, накопление основного ме-



таболита нифедипина происходило значительно медленнее, чем у испытуемых, не получавших флуконазол. Прирост концентрации метаболита нифедипина у испытуемых, получавших флуконазол, составлял до 50 Δ%, а у испытуемых, не получавших флуконазол, до 100 и выше Δ%. В то же время накопление нифедипина значительно больше у пациентов, получавших флуконазол (около 80 Δ%), а у испытуемых без флуконазола накопление нифедипина незначительно или отсутствует. Полученные сведения важны для клинической практики. Метаболиты нифедипина не обладают фармакологической активностью и не токсичны, поэтому их кумуляция в организме не опасна. Напротив, увеличение концентрации в плазме нифедипина может привести к различным НЛР, и прежде всего к гипотонии [10, 11]. Так, показано, что максимальное ингибирование СYP3A4 наступает через 5–7 дней после применения ЛС-ингибитора, и, в то же время активность СYP3A4 полностью восстанавливается также через 5–7 дней после отмены противогрибковых ЛС [5, 6]. Эта информация позволяет врачу ориентироваться по срокам коррекции дозы ЛС-субстратов при их совместном применении с ЛС-ингибиторами СYP3A4, такими, как противогрибковые препараты.

Кроме того, избежать подобных опасных взаимодействий можно, если врач учитывает, какие ЛС еще принимает больная. Кроме того, врач должен уточнить, не является ли применяемое совместно с противогрибковым препаратом средство субстратом тех или иных изоферментов цитохрома P450. Зная все это, врач должен снижать дозу ЛС-субстрата изофермента цитохрома P450 в 2 раза на весь период приема противо-

грибкового препарата плюс на 5 дней после окончания. К сожалению, не во всех инструкциях по применению ЛС имеется информация о том, какими изоферментами цитохрома P450 метаболизируется то или иное ЛС (табл. 2), однако справочники, содержащие эту информацию уже доступны [2, 4]. Кроме того, в США уже в течение нескольких лет действуют директивы FDA, согласно которым любое новое ЛС должно быть изучено на предмет путей биотрансформации (каким изоферментом цитохрома P450 метаболизируется), а также возможного ингибирующего или индуцирующего влияния на активность изофермента цитохрома P450, причем подобные исследования должны быть выполнены сначала *in vitro*, а затем *in vivo*. В последнее время рассматривают еще один важный механизм влияния противогрибковых препаратов на фармакокинетику ЛС: ингибирования Р-гликопротеина [10].

Р-гликопротеин, являющийся продуктом гена MDR1, представляет собой АТФ-зависимый насос, локализованный на цитоплазматических мембранах различных клеток и осуществляющий выброс во внеклеточное пространство различных ксенобиотиков, в том числе и ЛС. Экспрессию данного гена изначально изучали в опухолевых клетках с целью выяснения механизма резистентности опухолей к цитостатикам. Однако экспрессия гена Р-гликопротеина выявляется и в нормальных тканях организма человека. Р-гликопротеин обнаруживается в энтероцитах, гепатоцитах, клетках проксимальных почечных канальцев и эндотелиоцитах гистогематических барьеров (гематоэнцефалического, гематовариального, гематотестикулярного и гематоплацентарного). В кишечнике Р-гликопротеин выполняет

**Лекарственные средства, являющиеся субстратами изоферментов  
цитохрома P450 [4, 13, 15]**

<b>CYP1A2</b>			
Амитриптилин	Имипрамин	Оланзапин	Оланзапин
Ацетаминофен	Клозапин	Ондансетрон	Ондансетрон
Верапамил	Кломипрамин	Пропафенон	Пропафенон
Галоперидол	Кофеин	Пропранолол	Пропранолол
Дезипрамин	Мексилетин	Ретиноиды	Ретиноиды
Диазепам	Метадон	Рилузол	Рилузол
Зилеутон	Миртазапин	Ритонавир	Ритонавир
Золмитриптан	Напроксен	Ропивакаин	Ропивакаин
<b>CYP2C9</b>			
Аценокумарол	Зафирлукаст	Мефенамовая кислота	Тамоксифен
Гексобарбитал	Ибупрофен	Напроксен	Толбутамид
Глибурид	Индометацин	Омепразол	Торсемид
Глимепирид	Ирбесартан	Ритонавир	Фенитоин
Глипизид	Кандесартан	Розиглитазон	Флувастатин
Дапсон	Карведилол	Пироксикам	Флуоксетин
Диклофенак	Лозартан	Сульфаметоксазол	Целекоксиб
Дронабинол	Мелоксикам	Супрофен	S-Варфарин
<b>CYP2C19</b>			
Амитриптилин	Карисопродол	Пантопразол	Тенипозид
Вальпроевая кислота	Кломипрамин	Примидон	Фенитоин
Гексобарбитал	Лансопразол	Прогестерон	Фенобарбитон
Диазепам	Моклобемид	Прогуанил	Циклофосфамид
Дивольпроекс-натрий	Нелфинавир	Пропранолол	Циталопрам
Имипрамин	Нилутамид	Рабепразол	Эзомепразол
Индометацин	Омепразол	Ритонавир	R-мефобарбитал
<b>CYP2D6</b>			
Алпренолол	Имипрамин	Морфин	Тиоридазин
Амитриптилин	Карведилол	Небивалол	Тразодон
Амфетамин	Клозапин	Нортриптилин	Трамадол
Бисопролол	Кломипрамин	Пароксетин	Фенацетин
Буфуролол	Кодеин	Ондансетрон	Фенформин
Венлафаксин	Мапротилин	Перексиллин	Флекаинид
Галоперидол	Мексилетин	Перфеназин	Флувоксамин
Дебризохин	Меперидин	Пропафенон	Флуоксетин
Дезипрамин	Метадон	Пропранолол	Хлорпромазин
Декстраметорфан	Метоклопрамид	Ранолазин	Хлорфенирамин
Дексфенфлурамин	Метоксиамфетамин	Рисперидон	Циклобензаприн
Дилтиазем	Метопролол	Спартеин	«Экстази»
Доксепин	Минаприн	Тамоксифен	Энкаинид
Донепезил		Тимолол	

роль своеобразного насоса, «выкачивающего» ЛС из клетки в просвет кишечника. В гепатоцитах гликопротеин-P

способствует выведению ксенобиотиков в желчь. Р-гликопротеин эпителия почечных канальцев участвует в ак-

CYP3A4			
Азитромицин	Ифосамид	Миконазол	Таксол
Алпразолам	Имипрамин	Нелфинавир	Темазепам
Алфентанил	Индинавир	Нифедипин	Терфенадин
Амитриптилин	Иринотекан	Нитрендипин	Тестостерон
Амлодипин	Исрадипин	Нисолдипин	Триаололам
Астемизол	Каннабиноиды	Одансестрон	Тразадон
Аторвастатин	Карбамазепин	Паклитаксел	Фелодипин
Буспирон	Кетоконазол	Преднизон	Фентанил
Бусульфан	Кларитромицин	Прогестерон	Финастерид
Верапамил	Клиндамицин	Пимозид	Хинидин
Винбластин	Кломипрамин	Пропранолол	Хинин
Винкристин	Клоназепам	Ранолазин	Хлорфенирамин
Галоперидол	Клопидогрель	Ритонавир	Церивастатин
Гидрокортизон	Кокаин	Рифампин	Цизаприд
Дапсон	Лансопразол	Саквинавир	Циклобензаприн
Дексаметазон	Лерканидипин	Сальметерол	Циклофосфамид
Декстрометорфан	Лозартан	Силденафил	Циклоспорин
Диазепам	Ловастатин	Симвастатин	Эритромицин
Дилтиазем	Лидокаин	Сиролимус	Этопозид
Домперидон	Метадон	Сертралин	Эплренон
Залеплон	Мибефрадил	Такролимус	Эстрадиол
Золпидем	Мидазолам	Тамоксифен	

тивной секреции ксенобиотиков в мочу. Р-гликопротеин эндотелиоцитов гистогематических барьеров препятствует проникновению ксенобиотиков в ЦНС, яичники, яички, через плаценту. Таким образом, Р-гликопротеин обеспечивает адаптационный механизм, возникший в процессе эволюции для защиты организма от ксенобиотиков: он препятствует всасыванию ксенобиотиков и способствует скорейшему их выведению [4, 10]. Субстратами Р-гликопротеина являются многие широко применяемые ЛС: сердечные гликозиды, блокаторы медленных кальциевых каналов, ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (статины), блокаторы  $H_1$ -гистаминовых рецепторов, макролиды, некоторые цитостатики, противоретровирусные препараты и др., многие из которых одновременно являются субстратами изоферментов цитохрома Р450. Ингибиторы гликопротеина-Р повыша-

ют всасывание ЛС и угнетают их выведение, что приводит к повышению их концентрации и повышению риска развития НЛР [10]. В настоящее время предполагают, что наиболее опасными являются взаимодействия противогрибковых препаратов с ЛС, являющимися одновременно субстратами изоферментов цитохрома Р450 и гликопротеина-Р [2, 4, 10]. Однако этот механизм межлекарственного взаимодействия требует уточнения.

Как известно, клиническая фармакогенетика занимается изучением влияния генетических особенностей человека на фармакологический ответ при применении того или иного ЛС. Эти генетические особенности представляют собой т.н. однонуклеотидные полиморфизмы в генах, кодирующих белки, которые принимают участие в фармакокинетике и фармакодинамике ЛС [7]. В случае с противогрибковыми препаратами очевид-

но, что наибольшее клиническое значение имеет влияние полиморфизма генов, кодирующих ферменты биотрансформации противогрибковых лекарственных средств и прежде всего *CYP2C19* и *CYP3A5*. *CYP2C19* является главным ферментом биотрансформации вариконазола, а *CYP3A5* – кетоконазола.

*CYP2C19* является генетически полиморфным изоферментом цитохрома P450. Показано, что у носителей т.н. «медленных» аллельных вариантов гена *CYP2C19* снижается активность *CYP2C19*, а, следовательно, и снижение скорости биотрансформации ЛС, метаболизирующихся данным ферментом, и прежде всего это продемонстрировано для блокаторов протонного насоса, широко применяемых в гастроэнтерологической практике. Однако существуют и аналогичные работы, в которых изучалось влияние генетического полиморфизма *CYP2C19* на фармакокинетику противогрибкового ЛС вариконазола. Так, Ikedo Y. и соавт. [4] показали, что на фоне применения вариконазола у больных в дозе 200 мг/сутки, на 10 день терапии равновесная концентрация препарата была в 3 раза выше у лиц, являющихся носителями «медленных» аллельных вариантов гена *CYP2C19* по сравнению с лицами, не несущими таковых [9]. Однако при однократном применении вариконазола статистически значимых различий у лиц, несущих «медленные» аллельные варианты гена *CYP2C19* и не несущих таковых, не отмечалось [8]. Однако при однократном применении вариконазола с ингибитором *CYP2C19* – противовирусным ЛС – ритонавиром (ингибитор ВИЧ-протеиназы), максимальная концентрация в большей степени повышается именно у носителей «медленных» аллельных вариантов гена *CYP2C19* [12]. Таким образом, мож-

но предположить, что у лиц, несущих «медленные» аллельные варианты гена *CYP2C19*, необходимо назначать вариконазол в меньших дозах (половина от стандартной), что будет сопровождаться необходимым эффектом и отсутствием НЛР, так как концентрация вариконазола при таком режиме дозирования будет находиться в пределах терапевтического диапазона.

В настоящее время известно, что у пациентов, являющихся носителями аллельного варианта *CYP3A5\*3* (A6986G), отмечается снижение активности *CYP3A5*, что сопровождается замедлением выведения ЛС, метаболизирующимся данным ферментом (альпразолам, мидазолам, сакивнавир), что проявляется увеличением их концентрации в плазме крови и повышением риска развития НЛР. Это же оказалось справедливо и для кетоконазола. Так, Vuppalanchi и соавт. [16] показали, что на фоне применения кетоконазола в дозе 400 мг/сутки в течение 1 месяца, у гомозиготных носителей аллельного варианта *CYP3A5\*3* (генотип *CYP3A5\*3/\*3*) сопровождалось статистически значимо удлинением интервала QT на ЭКГ (с  $394,2 \pm 4,4$  мс до  $411,2 \pm 3,7$  мс,  $p < 0,0001$ ), в то время как у лиц, не несущих данный аллельный вариант (генотип *CYP3A5\*1/\*1*), длительность интервала QT на ЭКГ [16] изменялась статистически не значимо (с  $369,2 \pm 5,3$  мс до  $386,1 \pm 5,4$  мс,  $p > 0,05$ ). Как упоминалось выше, удлинение интервала QT на ЭКГ является предвестником и фоном развития опасной для жизни аритмии по типу «пируэт» или как еще ее называют «двунаправленной веретенообразной желудочковой тахикардии». Очевидно, что выявление носительства аллельного варианта *CYP3A5\*3* может быть использовано в перспективе для выбора безопасного противогрибкового ЛС.

В заключение следует подчеркнуть, что наибольшее клиническое значение имеет изучение системы биотрансформации и транспортеров для прогнозирования опасных взаимодействий противогрибковых препаратов с другими лекарственными средствами. Однако имеется ограниченное количество исследований, посвященных фармакогенетике противогрибковых ЛС, но результаты

уже выполненных исследований могут свидетельствовать о перспективности развития этого направления, так как могут предположить, что фармакогенетическое тестирование в будущем может быть «инструментом» персонализированного выбора наиболее эффективно и безопасно противогрибкового ЛС для конкретного пациента.

### Список литературы

1. **Балткайс Я.Я., Фатеев В.А.** Взаимодействие лекарственных веществ (фармакотерапевтические аспекты). М.: Медицина, 1991.
2. **Взаимодействие** лекарств и эффективность фармакотерапии. /Л.В. Деримедведь, И.М. Перцев, Е.В. Шуванова, И.А. Зупанец, В.Н. Хоменко; под ред. И.М. Перцева. Х.: Мегаполис, 2001. 784 с.
3. **Кукес В.Г.** Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. М.: Реафарм, 2004.
4. **Молекулярные** механизмы взаимодействия лекарственных средств. / Под ред. Пальцева М.А., Кукуса В.Г., Фисенко В.П. М.: АстраФармСервис, 2004.
5. **Раменская Г.В.** Хроматографическое определение лекарственных средств и их метаболитов для фенотипирования изоферментов цитохрома P450 / Г. В. Раменская // Химико-фармацевтический журнал: научно-технический и производственный журнал. 2005. Т. 39, № 2. С. 53–56.
6. **Раменская Г.В., Светлый Л.И., Куличенко А.С.** Влияние флуконазола на концентрацию блокаторов медленных кальциевых каналов в плазме крови//Клиническая фармакология и терапия. 2002. № 5. С. 54–56.
7. **Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатьев И.В., Кукес В.Г.** Клиническая фармакогенетика. Под ред. академика РАМН Кукуса В.Г. и академика РАМН Бочкова Н.П. М.: Гэотар-медиа, 2007. 248 с.
8. **Geist MJ, Egerer G, Burhenne J, Mikus G.** Safety of voriconazole in a patient with CYP2C9\*2/ уже выполненных исследований могут свидетельствовать о перспективности развития этого направления, так как могут предположить, что фармакогенетическое тестирование в будущем может быть «инструментом» персонализированного выбора наиболее эффективно и безопасно противогрибкового ЛС для конкретного пациента.
9. **Ikeda Y, Umemura K, Kondo K, Sekiguchi K, Miyoshi S, Nakashima M.** Pharmacokinetics of voriconazole and cytochrome P450 2C19 genetic status//Clin. Pharmacol. Ther. 2004. Jun. Vol.75, №6. P. 587–588.
10. **Kim R.B.** Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers//Drug. Metab. Rev. 2002. Vol.34. P. 47–54.
11. **Medicines Control Council.** Interaction between ketoconazole and domperidone and the risk of QT prolongation--important safety information//S. Afr. Med. J. 2006. Jul. Vol.96, №7. P. 596.
12. **Mikus G., Schowel V., Drzewinska M., Rengelshausen J., Ding R., Riedel K.D., Burhenne J., Weiss J., Thomsen T., Haefeli W.E.** Potent cytochrome P450 2C19 genotype-related interaction between voriconazole and the cytochrome P450 3A4 inhibitor ritonavir//Clin. Pharmacol. Ther. 2006, Aug. Vol.80, №2. P. 126–35.
13. **Niwa T., Shiraga T., Takagi A.** Drug-drug interaction of antifungal drugs//Yakugaku Zasshi. 2005, Oct. Vol.125, №10. P. 795–805.
14. **Uno T., Shimizu M., Sugawara K., Tateishi T.** Lack of dose-dependent effects of itraconazole on the pharmacokinetic interaction with fexofenadine//Drug. Metab. Dispos. 2006, Nov. Vol.34, №11. P. 1875–1879.
15. **Vivian J.C.** Liability for drug-drug interaction//U.S. Pharm. 1996. Vol.21. P. 93–95.
16. **Vuppalachchi R., Lucksiri A., Lang L.** Effect of CYP3A5 genotype ketokonazol induced QT prolongation//Clin. Pharmacol. Ther. 2005, Dec. Vol.77, №2. P. 5.



## Value of biotransformation and transporters system studying for optimization of antifungal drugs application

D. A. Sychev, V. V. Zaeva, R. A. Chilova, N. S. Semenov, V. G. Kukes

Antifungal drugs are often applied in clinical practice because of high prevalence of fungoid infections. Antifungal drugs metabolize by system of biotransformation and transporters, and also can influence its activity. In the review is discussed clinical value of interaction antifungal drugs with other drugs and pharmacogenetics bases of their safety at level of isoenzymes of cytochrome P450 and P-glycoproteine.

**Key words:** antifungal drugs, drug biotransformation, P-glycoproteine, cytochrome P450, adverse drug reactions, pharmacogenetics, genetic polymorphism.



### Сравнительная характеристика альтернативных биомоделей по гематологическим и биохимическим показателям

Н. Ю. Корягина<sup>1</sup>, Г. И. Пронина<sup>1</sup>, А. О. Ревякин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ ирригационного рыбоводства Россельхозакадемии, Московская обл.

<sup>2</sup> Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская обл.

Контактная информация: [Gidrobiont4@yandex.ru](mailto:Gidrobiont4@yandex.ru); [scbmt@yandex.ru](mailto:scbmt@yandex.ru)

Физиологическое состояние речных раков во многом определяется показателями метаболизма, в частности показателями гемолимфы. Клетки гемолимфы – гемоциты (все типы) участвуют в иммунной защите речных раков. Альбумины гемолимфы широкопалого рака (*Astacus astacus*) обоих полов составляют около 27% от общего белка. Отмечены видовые и половые различия свойств гемолимфы речных раков. Показатель активной реакции (рН) у широкопалого рака ниже, чем у длиннопалого (*Pontastacus leptodactylus*). Уровень глюкозы у самцов широкопалого рака выше, чем у самок того же вида и самцов длиннопалого. Щелочная фосфатаза активнее в гемолимфе *Pontastacus leptodactylus*, чем *Astacus astacus*. С большой степенью достоверности можно говорить о корреляции между содержанием альбуминов в гемолимфе *Astacus astacus* (как самцов, так и самок) и процентным содержанием полугранулоцитов; в отношении гранулоцитов прослеживается обратная корреляция.

**Ключевые слова:** биомодели, биомоделирование, раки, гемолимфа.

Перспективным направлением биомоделирования является использование беспозвоночных животных, которые обладают сопоставимостью физиологической реакции с высшими животными, а также специфическими свойствами, позволяющими расширить представления о спектре действия тестируемого фактора на биосистему. Кроме того, они удовлетворяют современным этическим представлениям и нормам, ограничивающим область применения высших животных в фармакологических и других экспериментальных исследованиях.

В качестве объекта нами были выбраны пресноводные речные раки, так как

они являются наиболее доступными и характеризуются некоторыми особыми свойствами, расширяющими их применение. В частности, раки обладают высокой регенеративной способностью. Данное свойство позволяет применять их при биотестировании различных факторов на морфогенез, пролиферацию и дифференцировку клеток различных тканей. Помимо этого, речные раки являются тест-объектами экологического мониторинга.

Гематологические и биохимические показатели гемолимфы речных раков отражают их физиологическое состоя-

ние. Кровеносная система речных раков родов *Astacus* и *Pontastacus* (*Decapoda: Crustacea*) незамкнутая. Дыхательный белковый пигмент гемолимфы речных раков – гемоцианин содержит в своем составе два атома меди, и свойства гемоциана различаются у водных и полуводных ракообразных [14]. Эволюционные последствия выхода на сушу сопровождается уменьшением Боровского эффекта и сродства гемоцианина к кислороду.

Клеточная часть циркулирующей гемолимфы представлена гемоцитами. Большинство исследователей выделяют 3 типа гемоцитов речных раков: агранулоциты, полугранулоциты, гранулоциты [5, 15]. Все эти клетки дифференцированы. Мы, придерживаясь данной классификации, выделяем незрелые прозрачные клетки, которые, вероятно, являются предшественниками клеток гемолимфы [6]. В полугранулоцитах и гранулоцитах содержится профенолоксидазная система, выполняющая функцию иммунной защиты организма. Под воздействием чужеродных агентов (например,  $\beta$  1,3-глюканов грибковых или LPS – липополисахаридов бактериальных клеток) она выделяется из клеток в гемолимфу, активизируя каскад ферментов, в результате профенолоксидаза (*prophenoloxidase*) превращается в активный фермент фенолоксидазу (*phenoloxidase*). Полугранулоциты и агранулоциты являются фагоцитами [13].

Гемоцитарная формула (процентное соотношение разных типов гемоцитов), которая может изменяться не только при патологии, является важным показателем, отражающим состояние речных раков. Отмечено, что у взрослых раков (3–4-леток) *Pontastacus leptodactylus* процентное содержание гранулоцитов выше, чем у годовиков [6].

Изучению гемолимфы речных раков посвящено не много работ. В основном, они направлены на определение влияния экологических факторов среды. Например, выяснено, что перепады температуры и солености вызывают изменения осмотической резистентности гемолимфы белого речного и красного болотного раков (*Procambarus clarkii*, *P. zonangulus*) [11].

Отмечено, что воздействие на речных раков *Astacus astacus* в межлиночный период мягкой воды с повышенной кислотностью (pH 4) в присутствии алюминия – 25  $\mu\text{моль/л}$  и  $\text{Ca}^{++}$  100  $\mu\text{моль/л}$  вызывает постепенное развитие серьезного метаболического ацидоза. Прямым ответом организма речного рака на данное изменение среды является усиленная вентиляция (гипервентиляция), что в значительной степени компенсирует ацидоз. При этом Боровский эффект гемоцианина *Astacus astacus* слабо выражен. Возникающее повышение постжаберного парциального давления углекислого газа ( $\text{PCO}_2$ ) имеет минимальное влияние на транспорт кислорода гемолимфой, концентрация гемоцианина не изменяется от кислотно-алюминиевого воздействия, не развивается внутренняя гипоксия. На основании этого сделано предположение, что покрытые хитиновым панцирем жабры речного рака в отличие от жабр рыб намного менее чувствительны к кислотному и кислотно-алюминиевому воздействию [12].

### Материалы и методы

В нашем эксперименте исследовались половозрелые речные раки: широкопалый (*Astacus astacus*) и длиннопалый (*Pontastacus leptodactylus*), которые содержались в аквариумах в течение месяца. В лабораторию для исследования они транспортировались в обсушенном виде

Размерно-весовые, гематологические и биохимические показатели половозрелых речных раков *Astacus astacus* и *Pontastacus leptodactylus* и их сравнительная оценка

Показатель	<i>Astacus astacus</i>		P – достоверность	<i>Pontastacus leptodactylus</i> (M±m)	P – достоверность
	♂	♀			
Вес, г	<b>29,0±3,96</b>	25,7±5,03	> 0,05	<b>64,5±6,95</b>	< 0,05
Длина тела, мм	<b>93,6±3,96</b>	96,3±5,32	> 0,05	<b>133,0±5,30</b>	< 0,05
ОЧГ в 1 мм <sup>3</sup>	384±111,6	544±56,0	> 0,05		
Время свертывания, сек.	2,4±0,27	2,8±0,55	> 0,05	3,4±0,53	> 0,05
Глюкоза, ммоль/л	<b>2,16±0,615</b>	<b>0,50±0,240</b>	< 0,05	< 0,55	< 0,05
Лактат, мг/дл	62,7±6,89	48,4±6,49	> 0,05	–	–
Альбумин, г/л	47,8±4,62	41,0±12,73	> 0,05	–	–
Мочевина, мг/дл, ммоль/л	8,66±1,198 1,44±0,20	6,90±2,860 1,15±0,48	> 0,05	–	–
Общ. белок, г/л	180±30,1	151±22,8	> 0,05	–	–
Триглицериды, мг/дл	9,4±1,44	24,5±11,80	> 0,05	–	–
Холестерин, мг/дл	11,3±1,76	11,7±2,91	> 0,05	–	–
АЛТ (U/L) при 37°C	80,6±11,67	102,3±15,89	> 0,05	55,1±17,75	> 0,05
АСТ (U/L) при 37°C	57,7±7,30	57,2±8,68	> 0,05	55,3±33,45	> 0,05
ЩФ (U/L) при 37°C	<b>17,1±2,09</b>	20,9±2,26	> 0,05	<b>78,0±20,21</b>	< 0,05
<b>Гемоцитарная формула, %</b>					
Агранулоциты	40,0±3,98	29,0±10,98	> 0,05	34,9±4,88	> 0,05
Полугранулоциты	24,2±5,72	34,3±4,82	> 0,05	29,7±3,43	> 0,05
Гранулоциты	27,8±2,82	29,8±7,92	> 0,05	32,1±2,35	> 0,05
Прозрачные клетки	8,0±1,90	4,5±1,67	> 0,05	3,4±1,58	> 0,05

Примечание: для перевода единиц в ммоль/л используется повышающий коэффициент 0,1665.

в течение 4 часов при температуре 21°C. Гемолимфу отбирали из вентрального синуса речных раков при сохранении их жизни и здоровья, с соблюдением правил асептики. Общее число гемоцитов (далее ОЧГ) определяли в камере Горяева по общепринятой методике, гемоцитарную формулу подсчитывали дифференциальным методом. Биохимические показатели определяли с помощью прибора: Chem Well + (перед исследованием гемолимфу центрифугировали при

4000 об/мин и температуре +6°C в течение 5 мин.) и Reflotron (без предварительной обработки гемолимфы). Время свертывания гемолимфы измеряли по Моравицу в модификации Тодорова. У речных раков агглютинации гемолимфы не происходит и фибриновая нить не образуется. Поэтому время свертывания фиксировали в самом начале коагуляции – образования желеобразного сгустка.

Статистическую обработку полученных результатов (малая выборка: от 4 до

Таблица 2

**Биохимические показатели крови разных видов лабораторных животных [4]**

Показатель	Самцы	Самки	P**
<b>Белые крысы</b>			
АЛТ, (U/L)	78,6±9,1	54,1±11,7	>0,05
АСТ, (U/L)	168,9±27,5	103,1±9,5	<0,05
ЩФ, (U/L)	61,5±29,0	254,1±30,3	<0,05
Белок, г/л	81,3±2,8	49,6±1,2	<0,001
Альбумин, г/л	40,6±1,1	46,4±1,2	<0,05
Мочевина, ммоль/л	5,1±0,6	5,0±0,3	>0,05
Глюкоза, ммоль/л	7,2±0,3	7,4±0,3	>0,05
<b>Морские свинки</b>			
АЛТ, (U/L)	63,8±3,9	78,1±13,8	>0,05
АСТ, (U/L)	109,6±14,8	102,7±18,9	>0,05
ЩФ, (U/L)	175,0±25,0	140,0±11,0	>0,05
Белок, г/л	40,9±2,3	42,1±2,6	>0,05
Мочевина, ммоль/л	9,0±0,9	8,8±0,4	>0,05
Глюкоза, ммоль/л	7,2±0,4	6,8±0,3	>0,05
<b>Кролики</b>			
АЛТ, (U/L)	77,1±13,5	104,4±44,3	>0,05
АСТ, (U/L)	72,8±26,4	52,3±9,0	>0,05
ЩФ, (U/L)	224,6±29,4	227,0±75,5	>0,05
Белок, г/л	79,1±4,0	76,6±4,2	>0,05
Альбумин, г/л	52,3±0,3	43,4±0,5	>0,001
Мочевина, ммоль/л	5,8±0,3	5,8±0,5	>0,05
Глюкоза, ммоль/л	8,4±0,4	9,0±0,4	>0,05

10 особей в каждой группе) проводили методом вариационной статистики по Стьюденту. Достоверными считались различия показателей при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Сравнительные характеристики половозрелых (3–4 года) самцов и самок вида *Astacus astacus* и самцов *Pontastacus leptodactylus* представлены в табл. 1. Достоверных отличий самцов и самок одного вида – *Astacus astacus* по размеру, весу,

а также по гематологическим и биохимическим показателям не отмечено, за исключением содержания глюкозы в гемолимфе, которое было значительно выше у самцов по сравнению с самками. Вероятно, это связано с активным расходом глюкозы самками в фазе репродуктивной активности. В гемолимфе *Astacus astacus* (как у самцов, так и у самок) альбумины составляют около 27% от общего белка. То есть примерно 73% приходится на глобулиновые фракции.

В силу видовых особенностей *Pontastacus leptodactylus* значительно крупнее, pH гемолимфы и активность щелочной фосфатазы у них выше, а содержание глюкозы меньше, чем у *Astacus astacus*. По активности аспаратаминотрансферазы (далее АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), времени свертываемости гемолимфы, а также по гемоцитарной формуле достоверных отличий между этими двумя видами не наблюдалось.

Сравнительный анализ биохимических показателей разных биомоделей показал, что уровень глюкозы в гемолимфе речных раков значительно ниже, чем в сыворотке крови млекопитающих (табл. 2), а у речных раков *Pontastacus leptodactylus* меньше чувствительности прибора. То же можно сказать и о содержании мочевины. Однако уровень белка и альбуминов в гемолимфе речных раков значительно выше, чем в сыворотке крови данных грызунов. Ак-



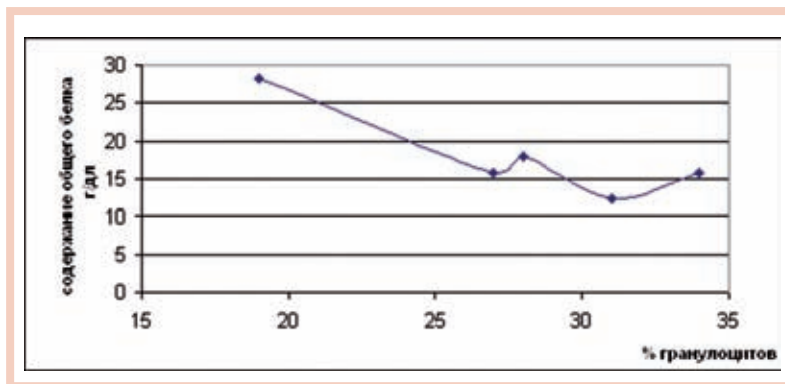


Рис. 1. Зависимость процентного содержания гранулоцитов от общего белка у самцов речных раков *Astacus astacus*. Показана обратная корреляция между содержанием общего белка и относительным количеством гранулоцитов гемолимфы самцов *Astacus astacus*

тивность трансфераз очень лабильный показатель, который может значительно меняться под воздействием факторов среды. Тем не менее, данный показатель незначительно отличался у всех изучаемых биомоделей разных систематических групп. У речных раков активность щелочной фосфатазы была небольшой по сравнению с млекопитающими биомоделями, при этом наблюдалась значительная вариабельность показателя. Данное различие можно объяснить различиями метаболизма. Во-первых, раки пойкилотермные животные, и обменные процессы идут у них медленнее. Во-вторых, у речных раков экзоскелет, в отличие от эндоскелета позвоночных, поэтому щелочная фосфатаза в значительной степени содержится в их покровных тканях, нежели в гемолимфе.

Корреляция биохимических показателей гемолимфы *Astacus astacus* с процентным содержанием разных типов гемоцитов представлена в табл. 3.

Анализируя полученные результаты, можно говорить о достоверной прямой корреляции между содержанием альбуминов в гемолимфе *Astacus astacus* (как самцов, так и самок) и процентным со-

держанием полугранулоцитов; в отношении гранулоцитов прослеживается также достоверная, но обратная корреляция (табл. 3). Прослеживается обратная зависимость содержания общего белка с гранулоцитами (рис. 1) и прозрачными клетками, а у самок – с полугранулоцитами. У самцов полугранулоциты связаны с общим белком прямой зависимостью (рис. 2). Графики наглядно демонстрируют прямую и обратную зависимости исследуемых показателей. В отношении аланинаминотрансферазы (далее АЛТ) достоверная корреляция наблюдается только у самцов: прямая – по отношению к полугранулоцитам, обратная – к агранулоцитам. У самцов отмечается достоверная обратная корреляция агранулоцитов с содержанием глюкозы.

У самок *Astacus astacus* наблюдается достоверная корреляция активности щелочной фосфатазы (далее ЩФ): прямая – с процентным содержанием гранулоцитов; обратная – с содержанием агранулоцитов и полугранулоцитов (у самцов не прослеживается корреляция).

### Выводы

Таким образом, характеристика гемолимфы пресноводных речных раков по-

**Коэффициенты корреляции (r) некоторых биохимических показателей и процентным содержанием разных типов гемоцитов *Astacus astacus***

Показатели обмена	Гемоцитарная формула, %							
	Агранулоциты		Полугранулоциты		Гранулоциты		Прозрачные клетки	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ЩФ	-0,27	<b>-0,89</b>	-0,04	<b>-0,85</b>	+0,04	<b>+0,95</b>	<b>+0,61</b>	+0,15
АЛТ	<b>-0,94</b>	+0,07	<b>+0,71</b>	+0,07	-0,27	+0,04	+0,25	+0,15
АСТ	<b>-0,66</b>	+0,01	-0,02	<b>-0,73</b>	0,47	-0,07	<b>+0,76</b>	<b>+0,88</b>
Альбумины	-0,38	<b>+0,78</b>	<b>+0,64</b>	<b>+0,75</b>	<b>-0,59</b>	<b>-0,81</b>	-0,22	+0,33
Общий белок	-0,27	<b>+0,81</b>	<b>+0,79</b>	<b>-0,76</b>	<b>-0,88</b>	<b>-0,71</b>	<b>-0,51</b>	<b>-0,70</b>
Лактат	-0,22	<b>+0,70</b>	<b>+0,77</b>	<b>-0,82</b>	<b>-0,89</b>	<b>-0,75</b>	<b>-0,52</b>	+0,45
Глюкоза	<b>-0,91</b>	<b>-0,03</b>	<b>+0,59</b>	<b>-0,97</b>	<b>+0,08</b>	+0,19	<b>+0,59</b>	+0,19
Холестерин	-0,33	<b>+0,68</b>	<b>+0,79</b>	<b>-0,75</b>	<b>-0,77</b>	<b>-0,74</b>	<b>+0,61</b>	+0,49
Мочевина	<b>-0,88</b>	+0,43	+0,43	<b>+0,55</b>	<b>-0,01</b>	-0,45	<b>+0,55</b>	<b>-0,69</b>

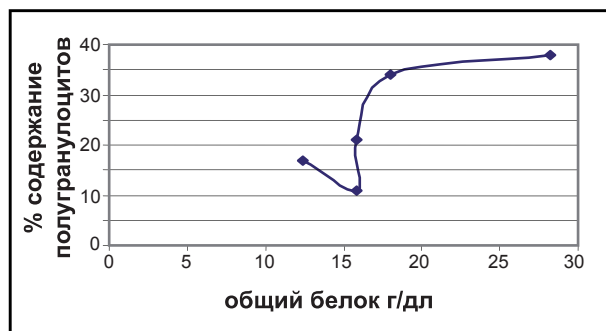


Рис. 2. Зависимость процентного содержания полугранулоцитов от содержания общего белка у самцов речных раков *Astacus astacus*. На графике точки (содержание общего белка, г/дл и содержание полугранулоцитов каждой особи в эксперименте, %) соединены сплошной линией. Видна прямая корреляция данных показателей: чем выше процент полугранулоцитов, тем выше содержание общего белка в гемолимфе

зволит создать нормативную базу для использования их в качестве биомоделей.

Видовые отличия по составу гемолимфы заключаются в том, что у широкопалого больше глюкозы, а показатели активной реакции (рН) и активности щелочной фосфатазы более низкие по

сравнению с длиннопалым. Имеют место половые различия гематологических и биохимических свойств гемолимфы. Содержание глюкозы в гемолимфе самцов широкопалого находится на гораздо более высоком уровне, чем у самок.

Альбумины гемолимфы *Astacus astacus* обоих полов составляют около 27% от общего белка.

Клеточная часть гемолимфы речных раков представлена четырьмя типами гемоцитов: прозрачными клетками (предшественниками клеток гемолимфы), агранулоцитами, полугранулоцитами, гранулоцитами.

Процентное содержание разных типов гемоцитов положительно или отрицательно коррелирует с биохимическими показателями гемолимфы: содержанием альбуминов и глюкозы, активностью АЛТ и др.

При проведении биохимических и гематологических исследований гемолимфы речных раков, используемых в ка-

честве биомоделей, при формировании групп аналогов необходимо учитывать их половую принадлежность.

### Список литературы

1. **Дубовская Л.В.** Выбор метода и обоснование методического подхода к выявлению активности холинэстераз цельной крови человека с использованием реактива БАС-Сл//Медицинская консультация. 1998. № 3. С. 35–39.

2. **Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Социлина Е.Е., Алебян Г.П.** О ферментативном гидролизе дитиохолинового эфира пробковой кислоты под действием различных холинэстераз//Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1997. Т. 33. С. 308–312.

3. **Курилова С.А., Богданова А.В., Назарова Т.И., Аваева С.М.** //Биоорганическая химия. 1984. Т. 10. С. 1147–1152.

4. **Малинин М.Л., Тихомирова Е.И., Обух Л.Б., Кияшко В.В., Ласкавский В.Н.** Половые различия по биохимическим показателям крови у разных видов лабораторных животных //Известия Саратовского Университета. 2008. Т.8. (Сер. Химия. Биология. Экология. Вып.1.) С. 51–54.

5. **Мартынова М. Г., Быстрова О. М., Парфенов В. Н.** Синтез нуклеиновых кислот и локализация предсердного натрийуретического пептида в гемоцитах речного рака //Цитология. 2008. Vol.50, №3. С. 243–248.

6. **Пронина Г. И., Корягина Н. Ю.** Повышение иммунофизиологического статуса ракообразных – основа эффективности раководства//Международная научно-практическая конференция: Рациональное использование пресноводных экосистем – перспективное направление реализации национального проекта «Развитие АПК». 2007. С. 418–421.

7. **Пронина Г.И., Корягина Н.Ю.** Некоторые видовые особенности физиологической и иммунной системы речных раков // Физиология адаптации: Материалы 1-й Всероссийской научно-практической конференции. Волгоград. 2008. С. 9–103.

8. **Танюхина О.Н., Коневалова А.Р., Попов А.И.** Диагностика раннего выявления нарушений здоровья лиц, контактирующих с фосфорорганическими отравляющими веществами, с помощью анализатора активности холинэстераз крови «Гранат-3» //Вестник российской военно-медицинской академии. 2005. Т. 1, № 14. С. 211–214.

9. **Хейль В., Коберштейн Р., Цавта Б.** Референтные пределы у взрослых и детей. Преаналитические предосторожности. М.: Мир, 2001. 176 с.

10. **Muller G.** Klinisch-chemische Diagnostik. Gustav Fischer Verlag. 1993. Jena Stuttgart. P. 233.

11. **Newsom J. E., Davis K. B.** 1994. Osmotic responses of haemolymph in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and white river crayfish (*P. zonangulus*) to changes in temperature and salinity//Aquaculture. Vol.126. P. 373–381.

12. **Jensen Frank B., Malte Hans.** Acid-base and electrolyte regulation, and haemolymph gas transport in crayfish, *Astacus astacus*, exposed to soft, acid water with and without aluminium //Comparative Physiology (B: Biochemical, Systemic and Environmental Physiology). 1990. Vol.160, № 5. P. 483–490.

13. **Soderhall K., Johansson M. W. and Smith V. J.** Internal Defence Mechanisms. Freshwater crayfish//Biology, management and exploitation, edited by D.M Holdich and R.S. Lowery. 1988. P. 213–235.

14. **Spicer J.I., Taylor A.C.** Oxygen-binding by haemocyanins from an ecological series of amphipod crustaceans // Marine Biology. 1994. Vol.120, № 2. P. 231–237.

15. **Taylor S., Landman M.J., Ling N.** Flow cytometric characterization of freshwater crayfish hemocytes for the examination of physiological status in wild and captive animals // J. Aquat. Anim. Health. 2009. Vol.21, №3. P. 195–203.

16. *Thomas L.* Alkalische Phosphatase. Marburg//Die Medizinische Verlagsgesellschaft.  
In: Thomas L (Editor) Labor und Diagnose, 1995. Stud.-Edit. der 4. S. 50.

## Comparative characteristics of alternative biomodels on hematological and biochemical parameters

N. Ju. Koryagina, G. I. Pronina, A. O. Revyakin

The physiological condition of crayfish is in many respects defined by metabolism indicators, in particular haemolymph indicators. Haemolymph cages – haemocytes (all types) participate in immune protection of crayfish. Albumins in haemolymph *Astacus astacus* both sex make about 27 % from the total protein and are postponed basically in semigranulocytes.

Specific and sexual distinctions of properties of a haemolymph of crayfish are noted. An indicator of active reaction (pH) of *Astacus astacus*, more low, than *Pontastacus leptodactylus*. Level of glucose at males *Astacus astacus* more higher, than at females of the same kind and males *Pontastacus leptodactylus*. Alkaline phosphatase is more active in haemolymph *Pontastacus leptodactylus*, than *Astacus astacus*. With the big degree of reliability it is possible to speak about correlation between concentrate albumins in haemolymph *Astacus astacus* (both males, and females) and percentage semigranulocytes in the relation granulocytes return correlation is traced.

**Key words:** biomodel, biomodeling, crayfish, hemolimfa.



## Частоты «медленных» аллельных вариантов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450 CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 у карачаевцев и черкесов

Д. П. Ромодановский, Б. А. Хапаев, И. В. Игнатъев,  
В. Г. Кукес, В. Н. Каркищенко

*Институт клинической фармакологии ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора,  
Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская обл.*

*Контактная информация: 109240, Москва, Яузская, 11, (495) 915 30 04 elmed@yandex.ru*

Различия в частотах аллельных вариантов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450 в различных этнических группах, могут обуславливать «этнические» различия в чувствительности к лекарственным средствам, что может служить основой создания региональных формуляров по фармакотерапии с учетом национального состава. Подобные исследования особенно актуальны для многонациональных регионов, и, в частности, республик Северного Кавказа. В исследование включили 77 черкесов и 152 карачаевцев. Всем участникам определяли носительство «медленных» аллельных вариантов генов CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 методом ПЦР–ПДРФ после предварительного выделения ДНК из лейкоцитов крови. Частоты аллелей и генотипов по 1846A гена CYP2D6, 681A (\*2), гена CYP2C19 не различались в этнических группах карачаевцев и черкесов. Частота аллельного варианта 357Leu гена CYP2C9 достоверно различалась между исследуемыми группами и приблизительно в 2 раза выше у карачаевцев: 24,8% у карачаевцев против 12,3% у черкесов,  $p=0,04$ . Можно предположить, что карачаевцы более чувствительны к ЛС-субстратам CYP2C9 (оральные антикоагулянты, НПВС, пероральные гипогликемические средства).

**Ключевые слова:** фармакогенетика, цитохрома P450, генетический полиморфизм, биотрансформация лекарственных средств, этническая фармакология

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что «работа» системы детоксикации ксенобиотиков, в которую входят и ферменты биотрансформации (особенно изоферменты цитохрома P450) и транспортеры лекарственных средств (ЛС), определяет уровень концентрации ЛС в плазме крови [6]. При этом очевидно, что влияние на нее различных факторов, включая генетиче-

ские, будут приводить к изменению концентрации ЛС в плазме крови, а значит, и к изменению эффективности и, особенно, безопасности ЛС [4]. При этом наиболее полиморфными изоферментами цитохрома P450 являются CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 [8]. Изучение влияния генетических факторов на фармакокинетику и фармакодинамику ЛС-субстратов данных изоферментов, которое, по сути,



является фармакогенетическим исследованием, может послужить основой для разработки индивидуализированного подхода к выбору режима дозирования, что будет способствовать снижению частоты развития серьезных неблагоприятных побочных реакций (НПР) при проведении фармакотерапии соответствующими ЛС, что должно иметь и положительные «экономические» последствия для здравоохранения страны [3]. Однако внедрение подобных фармакогенетических исследований в широкую клиническую практику невозможно без знания о частотах аллельных вариантов изучаемых генов в том регионе, в котором оно планируется, тем более важна информация по частотам аллельных вариантов у представителей различных этнических групп, проживающих на данной территории [7]. Эти различия в частотах аллельных вариантов могут являться основой «этнической предрасположенности» к развитию серьезных НПР [7, 9]. На территории России проживает множество этнических групп, особенно на Северном Кавказе, и во всех этих группах существует необходимость изучения частот аллельных вариантов генов *CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, что должно учитываться при составлении региональных формуляров по использованию ЛС.

**Целью** исследования является изучение частот аллелей и генотипов по «медленным» аллельным вариантам генов *CYP2D6*, *CYP2C19* и *CYP2C9* у коренного населения Республики Карачаево-Черкесия: карачаевцев и черкесов.

### Материалы и методы

В исследование включили 77 человек (31 мужчину и 46 женщин) в возрасте  $56 \pm 11$  лет, которые сами себя идентифицировали как черкесы, и 125 человек

(44 мужчин и 81 женщину), в возрасте  $58 \pm 11$  лет, которые сами себя идентифицировали как карачаевцы. В исследование не включали лиц, с одинаковыми фамилиями. Мы определили аллельный состав по следующим полиморфизмам: G1846A гена *CYP2D6*, G681A гена *CYP2C19* и Ile357Leu гена *CYP2C9* методом ПЦР-ПДРФ после предварительного выделения ДНК из лейкоцитов периферической крови фенольным методом. Достоверность различий значений частот этнических выборок определяли с помощью критерия хи-квадрат статистической программой «Биостатистика» («Primer of Biostatistics»), версия 4.03.

### Результаты

Частота клинически значимого аллеля 1846A гена *CYP2D6* не имеет достоверных различий между двумя исследуемыми этническими группами и составляет 15% у черкесов и 20,8% у карачаевцев. Анализ генотипа по полиморфизму G1846A гена *CYP2D6* выявил отсутствие достоверных различий между исследуемыми этническими группами. Частота гомозигот 1846AA, обуславливающих фенотип «медленных» метаболитаторов цитохрома P450 2D6, составила 2,6% у черкесов и 5,6% у карачаевцев.

Частота клинически значимого аллеля 681A (\*2) гена *CYP2C19*, обуславливающего низкую активность кодируемого им цитохрома P450 2C19, не имеет достоверных различий между исследуемыми этническими группами и составляет 18,8% у черкесов и 14% у карачаевцев. Анализ генотипа по полиморфизму G681A гена *CYP2C19* выявил отсутствие достоверных различий между исследуемыми этническими группами. Частота гомозигот клинически значимого аллеля 681A (\*2/\*2) составила 6,5% у черкесов и 1,6% у карачаевцев.

Частота клинически значимого аллеля 357Leu гена CYP2C9 достоверно различается между исследуемыми группами и приблизительно в 2 раза выше у карачаевцев (24,8% против 12,3% у черкесов). Достоверные этнические различия частоты аллеля 357Leu гена CYP2C9 соответственно обуславливают достоверные различия распределения генотипа по данному полиморфизму. Этот факт, во-первых, интересен сам по себе, так как нуждается в корректной интерпретации, а во-вторых, важен с практической стороны для разработки, планирования

и внедрения фармакогенетических подходов индивидуализированной фармакотерапии.

### Результаты и обсуждение

По нашим данным, частоты аллелей и генотипов по 1846A гена CYP2D6, 681A (\*2) гена CYP2C19 не различались в этнических группах карачаевцев и черкесов. Кроме того, частоты аллелей и генотипов по 1846A гена CYP2D6, 681A (\*2) гена CYP2C19, обнаруженные у карачаевцев и черкесов, были сопоставимы с частотами аллелей и генотипов по

Таблица 1

Частоты аллелей по полиморфизмам исследуемых генов этнических выборок черкесов и карачаевцев

Ген	Полиморфизм	Аллель/ Генотип	Черкесы	Карачаевцы	Значения $\chi^2$ , p
			Частота, % (Кол-во аллелей)	Частота, % (Кол-во аллелей)	
CYP2D6	G1846A	1846A	15% (23 ал.)	20,8% (52 ал.)	$\chi^2=1,798$ p=0,180
		1846G	85% (131 ал.)	79,2% (198 ал.)	
CYP2C19	G681A	681A	18,8% (29 ал.)	14% (35 ал.)	$\chi^2=1,326$ p=0,250
		681G	81,2% (125 ал.)	86% (215 ал.)	
CYP2C9	Ile357Leu	357Ile	87,7% (135 ал.)	75,2% (188 ал.)	$\chi^2=8,472$ p=0,04
		357Leu	12,3% (19 ал.)	24,8% (62 ал.)	

Таблица 2

Частоты генотипов исследуемых генов этнических выборок черкесов и карачаевцев

Ген	Полиморфизм	Аллель/ Генотип	Черкесы	Карачаевцы	Значения $\chi^2$ , p
			Частота, % (Кол-во аллелей)	Частота, % (Кол-во аллелей)	
CYP2D6	G1846A	1846AA	2,6% (2 чел.)	5,6% (7 чел.)	$\chi^2=2,057$ p=0,358
		1846GA	24,7% (19 чел.)	30,4% (38 чел.)	
		1846GG	72,7% (56 чел.)	64% (80 чел.)	
CYP2C19	G681A	681AA	6,5% (5 чел.)	1,6% (2 чел.)	$\chi^2=3,444$ p=0,179
		681GA	24,7% (19 чел.)	24,8% (31 чел.)	
		681GG	68,8% (53 чел.)	73,6% (92 чел.)	
CYP2C9	Ile357Leu	357IleIle	75% (58 чел.)	52% (65 чел.)	$\chi^2=11,369$ p=0,003
		357IleLeu	25% (19 чел.)	46,4% (58 чел.)	
		357LeuLeu	0% (0 чел.)	1,6% (2 чел.)	

изучаемым аллельным вариантам в популяции русских и других европейских популяциях [1, 5]. Следовательно, можно предположить отсутствие этнической чувствительности у карачаевцев и черкесов к ЛС-субстратам *CYP2D6* (бета-адреноблокаторы, нейролептики, антидепрессанты и др.) и *CYP2C19* (ингибиторы протонного насоса, некоторые антиконвульсанты и др.). Однако частоты аллеля и генотипов, соответствующих гомозиготному или гетерозиготному носительству 357Leu гена *CYP2C9*, были достоверно выше у карачаевцев по сравнению с черкесами. Можно предположить, что карачаевцы обладают гене-

тически детерминированной чувствительностью к ЛС-субстратам *CYP2C9* (оральные антикоагулянты, НПВС, пероральные гипогликемические средства), а следовательно, и предрасположенность к развитию НПР при их применении [2]. С этих позиций можно рекомендовать применять у карачаевцев ЛС-субстратов *CYP2C9* начиная с минимальных доз, соблюдая более тщательный контроль за параметрами безопасности данных ЛС. Подобный подход перспективен с точки зрения повышения безопасности фармакотерапии и может быть экономически оправдан за счет сокращения расходов на коррекцию НПР.

### Список литературы

1. **Гасанов Н.А.** Популяционное фармакогенетическое исследование *CYP2D6* в Республике Азербайджан. // Сборник материалов научно-практической конференции: «Рациональная фармакотерапия: теория и практика применения лекарств». Хабаровск. 2007. С. 51–52.

2. **Сычев Д.А., Игнатьев И.В., Раменская Г.В., Кропачева Е.С., Михеева Ю.А., Панченко Е.П., Белолипецкая В.Г., Белолипецкий Н.А., Казаков Р.Е., Гасанов Н.А., Кукес В.Г.** Фармакогенетические исследования системы биотрансформации и транспортеров для персонализации фармакотерапии в кардиологии (российский опыт): фармакогенетические исследования *CYP2C9*//Клиническая фармакология и терапия. 2007. №3. С. 44–48.

3. **Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатьев И.В., Кукес В.Г.** Клиническая фармакогенетика: Учебное пособие/ Под ред. академика РАМН В.Г. Кукеса и академика РАМН Н.П. Бочкова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 248 с.

4. **Dawood S.** *Pharmacology, pharmacogenetics, and pharmacoepidemiology: three ps of individualized therapy.* Cancer Invest. 2009. Oct. Vol.27, №8. P. 809–815.

5. **Gaikovitch E.A., Cascorbi I., Mrozikiewicz P.M., Brockmüller J., Frötschl R., Köpke K., Gerloff T., Chernov J.N., Roots I.** Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP1A1*, *NAT2* and of P-glycoprotein in a Russian population// Eur. J. Clin. Pharmacol. 2003, Aug. Vol.59, №4. P. 303–312.

6. **Gomez A., Ingelman-Sundberg M.** Pharmacogenetics: its role in interindividual differences in drug response//Clin. Pharmacol. Ther. 2009, Apr. Vol.85, №4. P. 426–430.

7. **Ieiri I., Higuchi S.** Pharmacogenomics: inter-ethnic and intra-ethnic differences in pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of clinically relevant drugs//Yakugaku Zasshi. 2009, Feb. Vol.129, №2. P. 231–235.

8. **Nebert D.W., Dalton T.P.** The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signalling pathways and environmental carcinogenesis. Nat Rev Cancer. 2006. Dec;6(12):947–60.

9. **Wooten J.** Reporting adverse drug reactions//South Med. J. 2009, Apr. Vol.102, №4. P. 345–346.

## Frequencies the «slow» allele variants of the genes coding isoenzymes of cytochrome P450 CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 in Karachaevs and Circassians

D. P. Romodanovsky, B. A. Khapaev, I. V. Ignatiev,  
V. G. Kukes, V. N. Karkischenko

Distinctions in frequencies allele variants of the genes coding isoenzymes of cytochrome P450, in various ethnic groups, can cause the ethnic distinctions in sensitivity to drugs that can form a basis of creation of regional data cards on pharmacotherapy taking into account national structure. Similar researches are especially actual for multinational regions, and, in particular republics of the North Caucasus. In research have included 77 Circassians and 152 Karachaevs. To all participants defined caring the slow allele variants of genes *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9* method PTSR-PDRF after preliminary allocation of DNA from blood leukocytes. Frequencies alleles and genotypes on 1846A gene *CYP2D6*, 681A (\*2) genes *CYP2C19* did not differ in ethnic groups Karachaevs and Circassians. Frequency allele variant 357Leu gene *CYP2C9* authentically differed between investigated groups and approximately in 2 times above in Karachaevs: 24,8% in Karachaevs vs 12,3% in Circassians,  $p=0,04$ . It is possible to assume that Karachaevs are more sensitive to drugs-substrats *CYP2C9* (oral anticoagulants, NSAID).

**Key words:** pharmacogenetics, cytochrome P450, genetic polymorphism, drug biotransformation, ethnic pharmacology.

## Исследование влияния дифторида ксенона $\text{XeF}_2$ в дозе 12,5 мг/кг на развитие рака молочной железы мышей

Х. Х. Семенов, Н. Н. Каркищенко, Г. Д. Капанадзе, А. А. Артюхов,  
А. А. Артюхов, Т. Б. Бескова, Е. Л. Матвеенко, А. О. Ревякин

*Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская обл.  
РНИИ Курчатовский институт*

Контактная информация: [matveyenkoel@mail.ru](mailto:matveyenkoel@mail.ru)

---

Исследовано влияние дифторида ксенона в дозе 12,5 мг/кг на продолжительность жизни мышей, больных раком молочной железы I и II стадии опухолевого роста. Животные поступили из популяции Kv:SHK, разводимой в филиале «Андреевка» НЦБМТ РАМН. Согласно результатам исследования, препарат не оказал значимого влияния на срок жизни мышей-носителей опухолей молочной железы. Все 80 голов в опыте и 40 – в контроле пали в течение 4-х месяцев. Дифторид ксенона на проявил также мутагенного эффекта ни на половых клетках самцов (метод доминантных леталей), ни на клетках костного мозга (цитогенетический анализ).

**Ключевые слова:** молочная железа, рак, дифторид ксенона  $\text{XeF}_2$ , цитогенетический анализ, абберрации хромосом.

---

Интерес к проблеме опухолевого роста обусловлен ее разносторонним значением не только для медицины, но и для биологической науки в целом. Необходимость понимания эволюционной сущности неопластического процесса и выяснение наиболее общих причин, лежащих в его основе, привели к созданию направления, цель которого – поиск и установление общих закономерностей возникновения и развития новообразований. Накопление огромного фактического материала (и не только в рамках онкологии, но и в смежных областях таких биологических дисциплин, как экология, генетика, синтетическая теория эволюции, сравнительная физиология и биохимия и т.д.) поставило перед исследователями новые вопросы, решение которых может иметь существенное теоретическое и практическое значение для проблем рака в целом.

Один из таких вопросов можно сформулировать следующим образом: су-

ществует ли филогенетический порог в возникновении опухолей и чувствительности к опухолеродным воздействиям? Большинство исследователей признают, что опухоль – это относительно автономное патологическое разрастание тканей, характеризующееся рядом особенностей и вызванное конкретными нарушениями в системах, обеспечивающих внутритканевую и межклеточный гомеостаз. Живые организмы способны отвечать на воздействия бластомогенных факторов образованием опухолей лишь на определенной ступени филогенеза. Этот порог лежит на уровне кишечнополостных животных, так как начиная именно с кишечнополостных имеется «субстрат» (ткань; наличие экто- и эндодермы) для возникновения опухолей и зачатки нервной и гуморальной регуляции [5, 6].

Еще один вопрос, логично связанный с предыдущим. Существуют ли сре-



ди *Eumetasoа* виды, свободные от опухолей или виды, нечувствительные к канцерогенным воздействиям? До сих пор поиски видов, свободных от опухолей, безуспешны. В ходе эволюции, приобретая определенные преимущества для выживания, организмы усложняются и совершенствуются. Вместе с усложнением тканей и систем регуляции возрастает и потенциальная возможность поломки в них, что может проявиться и в неопластическом росте. Это положение подтверждается хорошо известными фактами увеличения числа опухолей от низших форм к высшим. У низших беспозвоночных новообразования не только малочисленны, но и чрезвычайно однообразны; у более организованных объектов возрастает как частота неоплазм вообще, так и частота опухолей отдельных локализаций. Эта тенденция прослеживается не только в таких крупных таксонах, как тип, но и в классах, и объясняется как приобретением в фелогенезе новых органов (а значит, и «мишеней»), так и все возрастающими и усложняющимися связями организма с внешней средой.

Однако при анализе распространенности новообразований среди мелких таксономических групп (начиная с семейств) бросается в глаза крайне неравномерное их распределение. Например, среди рыб в отряде карпозубообразных подавляющее большинство опухолей обнаружено у карпозубых, в других семействах наблюдаются единичные случаи опухолей; среди грызунов – чаще у крыс и мышей, и исключительно редко – у кроликов и морских свинок [5].

У человека как вида частота различных опухолей существенно отличается от таковой у любого другого млекопитающего, что связано в значительной сте-

пени с диетой, вредными привычками, профессией и условиями внешней среды [7].

Основным методом борьбы с опухолями многих локализаций является химиотерапия. Химиотерапия злокачественных новообразований, введенная в клиническую практику в 40-х гг. прошлого века, развилась к настоящему времени в самостоятельную область биомедицинской науки. Изучение молекулярных и клеточных механизмов действия противоопухолевых препаратов, привлечение иммунологических подходов к объяснению некоторых феноменов химиотерапии позволяют проводить направленный поиск активных агентов, разрабатывать принципиально новые подходы к лечению опухолей.

Однако остается малоизученным парадоксальный аспект химиотерапии, который привлекает к себе внимание исследователей и который можно определить, как феномен усиления агрессивности поведения опухолевых клеток под воздействием химиотерапии [2].

В настоящее время хорошо известен, но трудно объяснить тот факт, что при достаточно высокой первоначальной чувствительности к химиотерапии последняя дает лишь незначительный эффект в лечении больных.

Одним из важнейших биологических свойств опухоли является опухолевая прогрессия, выражающаяся в усилении признаков злокачественности по мере роста опухоли, в основе которого лежит нестабильность генотипа [10]. Эта нестабильность, по-видимому, может быть причиной того, что неопластические клетки более склонны к мутациям, чем их нормальные аналоги [13]. Найдено, что в опухолях с более злокачественным фенотипом накапливается больше

генетических изменений, чем в менее анаплазированных неоплазмах [16]. А поскольку большинство противоопухолевых препаратов являются мутагенами, следовательно, мутагенный эффект химиотерапии может способствовать появлению более злокачественных мутантов опухолевых клеток. Об усилении опухолевой прогрессии после химиотерапии свидетельствуют данные анализа клеточных линий, полученных от больных нейробластомой до и после химиотерапии. Во втором случае клетки имели значительное укорочение времени удвоения, большую эффективность посева, содержали повышенное число минихромосом [14].

При обсуждении механизмов повышения агрессивности поведения опухолевых клеток при химиотерапии рассматриваются, как правило, два аспекта этого процесса: действие препаратов на опухолевую клетку и влияние на организм опухоленосителя. Генетическая нестабильность, свойственная неопластическим клеткам, способствует генерации мутантов с повышенной способностью к выживанию, что может проявляться в более агрессивном поведении. Известно, что метастатический потенциал коррелирует с увеличением спонтанных мутаций [5].

Большинство химиотерапевтических режимов иммуносупрессивны. У больных отмечается лимфопения, снижение бласттрансформации лимфоцитов крови и концентрации сывороточных иммуноглобулинов [14]. Эти свойства противоопухолевых цитостатиков, как известно, используются в трансплантологии, что, по мнению L. Laursen [10], является одним из величайших парадоксов медицины. Одни и те же препараты при-

меняются с прямо противоположными целями. Больным с пересаженными органами цитокинетические препараты вводят для предотвращения отторжения гомографта, а онкологическим больным – для того, чтобы вызвать отторжение аутографта [10]. Таким образом, накоплено достаточно экспериментальных фактов, свидетельствующих о том, что в определенных условиях химиотерапевтические воздействия могут усиливать злокачественность опухоли. Анализ этих данных диктует необходимость учитывать все большее число факторов, влияющих на выбор режимов лечения, соответствующих доз.

Возможно, что определение оптимальной иммуномодулирующей дозы цитостатика, использование модификаторов биологических реакций, своевременная соответствующая коррекция режимов химиотерапии позволят снизить до минимума ее нежелательные последствия.

Цель настоящей работы – исследование влияния дифторида ксенона на рак молочной железы мышей.

### **Материалы и методы**

Исследование проводилось на мышах стока Kv:SHK филиала «Андреевка», которые характеризуются высокой частотой рака молочной железы. Из популяции мышей SHK на эксперимент были отобраны 120 самок, больных раком молочной железы. Самки были разбиты на две группы: опытную – 80 голов и контрольную – 40. Самки отбирались с учетом стадии опухолевого роста пропорционально количеству животных в группах. На эксперимент были взяты самки только с I и II стадией опухолевого роста. Животные содержались в конвенциональных условиях по 5 голов

в клетке размером 20×15×13 см фирмы ВЕЛАЗБ, в качестве подстилочного материала применялись древесные опилки. Мыши получали гранулированный комбикорм производства ООО «Лабораторкорм». Самкам опытной группы инъектировали раствор дифторида ксенона в дозе 12,5 мг/кг живого веса внутрибрюшинно. Дозу устанавливали путем предварительного исследования токсичности препарата. На втором этапе, как правило, рекомендуется использовать 3–4 дозы. Для лекарственных препаратов рекомендуется использовать терапевтическую дозу и дозы, превышающие ее в 5 и 15 раз, а также 0,5 ЛД<sub>50</sub> [8]. Мы использовали максимальную дозу 0,5 ЛД<sub>50</sub>, которая составила 12,5 мг/кг. Инъекцию проводили по 2 раза в неделю с интервалом в 3–4 дня за весь период наблюдения. Эффект дифторида ксенона оценивали по разнице в сроках выживания самок опытной и контрольной групп.

Поскольку большинство противоопухолевых препаратов являются высокоактивными мутагенами, мы сочли необходимым исследовать дифторид ксенона на возможный мутагенный эффект. Оценку мутагенной активности дифторида ксенона проводили двумя методами. Методом доминантных леталей (ДЛ) – в половых клетках самцов мышей и методом цитогенетического анализа в клетках костного мозга. В обоих случаях исследования были использованы мыши линии C57BL/6Y, поддерживаемые в НЦБМТ РАМН, которые являются одной из наиболее чувствительных к мутагенам линий. При исследовании мутагенного эффекта дифторида ксенона с целью максимального избегания влияния генотипа самцов в опыте и контроле были использованы одни и те же животные. Для этого каждому из 15 самцов подса-

живали по 3 виргинных самки ICR, которые также поддерживаются в НЦБМТ РАМН. Через неделю самок отсаживали, а самцам вводили внутрибрюшинно дифторид ксенона в дозе 12,5 мг/кг и тут же подсаживали по 3 виргинных самки, которых через неделю меняли также на 3 виргинных самок. Первая группа самок (45 гол.), отсаженная от необработанных самцов, служила контрольной группой, последняя группа, подсаженная на второй неделе после инъекции препарата, – опытной. Самок как опытной, так и контрольной групп вскрывали на 15–17-й день беременности для анализа эмбриональной смертности и определения частоты индуцированных доминантных леталей. Более подробно метод изложен в наших рекомендациях [4]. Расчет частоты ДЛ производили по формуле, предложенной Эллингом [9].

Термином ДЛ обозначают наследственные изменения в половых клетках родительских особей, которые вызывают смерть потомков первого поколения, в основном, во время эмбрионального развития. Большая часть или почти все доминантные летали представляют собой количественные и структурные аберрации хромосом, приводящие к утратам генетического материала во время деления клеток эмбриона. Доминантные летали приводят к увеличению эмбриональной смертности и, соответственно, снижению выживаемости эмбрионов и плодовитости самок. Доминантные летали могут быть индуцированы как в мужских, так и в женских половых клетках, но обычно воздействию мутагена подвергают только самцов, которых затем спаривают с интактными виргинными самками. Если яйцеклетка оплодотворена сперматозоидом, несущим доминантные летали, то смерть развивающегося

эмбриона может произойти как до, так и после имплантации. Вещества, способные индуцировать структурные aberrации хромосом, являются мутагенами.

Цитогенетический анализ клеток костного мозга осуществляли на мышах той же линии, что и для учета частоты доминантных леталей, а именно, на линии С57BL/6Y. Опытная группа состояла из 5 самок, контрольная – из 10. Разница по количеству животных была связана с соответствующими рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). В целях получения надежной и полной информации в спонтанном мутационном процессе ВОЗ рекомендовала использовать в контроле 10 животных [8]. Определение мутагенной активности дифторида ксенона по тесту цитогенетического анализа клеток костного мозга проводили с той же дозой, что для ДЛ – 12,5 мг/кг. Раствор препарата вводили самкам внутрибрюшинно. Для фиксации максимального количества метафаз за 2 часа до приготовления препаратов мышам вводили 0,025% раствор колхицина внутрибрюшинно по 0,01 мл на 1 г веса. Для выявления мутагенного эффекта следует учитывать ахроматические повреждения хромосом (пробелы) и структурные aberrации – фрагменты хромосом и обмены.

Следует отметить, что анеуплодия очень слабо возрастает даже после сильных мутагенов, высока вероятность артефактов, обусловленных обработкой клеток при приготовлении препаратов, поэтому этот показатель использовать нецелесообразно. Подробное описание метода дается в методических рекомендациях [4].

### Результаты исследований

Результаты экспериментального исследования влияния химического соеди-

нения – дифторид ксенона  $\text{XeF}_2$  на рак молочной железы у самок мышей представлены в табл. 1. Проведенная экспе-

Таблица 1

### Результаты исследований влияния дифторида ксенона на продолжительность жизни мышей с раком молочной железы

Срок жизни, мес.	Количество павших животных			
	Опыт		Контроль	
	голов	%	голов	%
1	5	6,25	2	5,0
2	18	22,50	10	25,0
3	26	32,50	12	30,0
4	31	38,75	16	40,0

риментальная работа показала, что дифторид ксенона  $\text{XeF}_2$  в дозе 12,5 мг/кг не произвел видимых изменений на темп роста новообразований у мышей опытной группы за весь период исследования. Значительных различий по этому показателю между опытной и контрольной группой животных не наблюдалось. Смерть самок по месяцам, выраженная в процентах, – наглядное тому свидетельство. Имеющие место небольшие колебания между группами по месяцам (22,5–25,0; 32,75–40,0) были статистически недостоверны. Все животные как в опыте, так и в контроле пали в течение четырех месяцев.

Таким образом, результаты проведенных исследований служат основанием для утверждения, что дифторид ксенона  $\text{XeF}_2$  не оказывает значимого влияния на рост опухоли молочной железы у мышей, следовательно, и на жизнеспособность их носителей. Несмотря на развитие новых методов исследования мутагенных факторов, значение метода доминантных леталей (ДЛ) не снижается, напротив, он остается основным ме-

тодом оценки мутагенного эффекта в половых клетках млекопитающих. Это обусловлено тем, что половые клетки наиболее чувствительны к мутагенному действию химических агентов.

Данные, полученные в результате исследования плодовитости и эмбриональной смертности у мышей после воздействия дифторидом ксенона в дозе 12,5 мг/кг на поздние сперматозоиды самцов мышей инбредной линии C57BL/6Y, представлены в табл. 2.

Вскрытие самок опытной и контрольной групп показало, что плодовитость была практически одинаковой, независимо от того, с какими самцами они были спарены. Наблюдаемые небольшие колебания числа живых эмбрионов на самку (8,38 и 8,11) статистически недостоверны. Смертность эмбрионов после имплантации практически была одинаковой в опыте и контроле. Частота доминантных лета-

Таблица 2

**Результаты вскрытия беременных самок, скрещенных с самцами, обработанными дифторидом ксенона в дозе 12,5 мг/кг**

Показатель	Опыт	Контроль
Число:		
самок	36	31
живых эмбрионов	292	258
мертвых эмбрионов	38	37
Смертность после имплантации	0,115	0,125
Живых эмбрионов на 1 самку	8,11	8,32
Частота ДЛ, %	2,6	

Таблица 3

**Результаты анализа кластогенного эффекта в клетках костного мозга дифторида ксенона, введенного в дозе 12,5 мг/кг мышам линии C57BL/6Y**

Показатель	Опыт	Контроль
Количество клеток в анализе	500	1000
Число аберраций		
ГЭПы	3	5
Хроматидные разрывы (одиночные фрагменты)	1	6
Изохроматидные разрывы (пары фрагментов)	2	2
Частота поврежденных клеток, %		
Только с ГЭПами	0,6	0,5
Со структурными повреждениями	0,6	0,8
Всего поврежденных клеток	1,2±0,49	1,3±0,36

лей, рассчитанная по формуле Эллинга, составила лишь 2,6%. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии мутагенного эффекта дифторида ксенона на поздних сперматидах (2-я неделя) самцов мышей C57BL/6Y.

Данные цитогенетического анализа клеток костного мозга мышей линии C57BL/6Y после воздействия дифторидом ксеноном в дозе 12,5 мг/кг представлены в табл. 3. Уровень «индуцированных» дифторидом ксенона хромосомных нарушений в клетках костного мозга мышей опытной группы был ниже спонтанных нарушений хромосом мышей контрольной группы. Основным типом структурных повреждений хромосом в клетках костного мозга мышей как опытной, так и контрольной групп были фрагменты. Результаты цитогенетического тестирования дифторида ксенона свидетельствуют, что он не обладает мутагенной активностью. Таким образом, результаты цитогенетического анализа полностью согласуются с таковыми, полученными методом доминантных лета-



лей. Это означает, что дифторид ксенона не является мутагеном.

## Выводы

Результаты проведенных исследований дают основание заключить, что дифторид ксенона в дозе 12,5 мг/кг не тормозит рост опухоли у мышей, больных раком молочной железы. Следовательно, он не в состоянии значительно увеличить продолжительность жизни экспериментальных животных в сравнении с их аналогами в контроле. Мыши опытной и контрольной групп пали в течение четырех месяцев.

## Список литературы

1. **Бриан П.** Бластогенез и гематогенез. Л.: Медицина, 1968.
2. **Коновалова Н.П.** Парадоксы химиотерапии//Вопросы онкологии. 1992. № 10. С. 1155–1163.
3. **Макрушин А.В., Худoley В.В.** Опухоль как атавистическая адаптивная реакция на условия окружающей среды//Общая биология. 1991. Т. 52, № 52. С. 717–721.
4. **Малашенко А.М., Суркова Н.И., Семенов Х.Х., Бескова Т.Б.** Определение мутагенной активности химических соединений с использованием лабораторных мышей. Методические рекомендации. М., 1985.
5. **Худoley В.В.** Сравнительный анализ опухолевого роста//Общая биология. 1976. Т. 39, № 2 С. 242–254.
6. **Худoley В.В.** Филогенез и онтогенез//Природа. 1978. № 5. С. 114–120.
7. **Худoley В.В.** Экологическая онкология //Природа. 1992. № 26. С. 311–344.
8. **Методические** рекомендации по проверке мутагенных свойств у новых лекарственных препаратов. М.: Минздрав СССР, 1981.

Дифторид ксенона в дозе 12,5 мг/кг исследован на мутагенную активность методом воздействия на поздние сперматозоиды самцов (ДЛ) и методом цитогенетического анализа клеток костного мозга. В результате проведенных исследований установлено, что дифторид ксенона в дозе 12,5 мг/кг не оказал значимого влияния как на уровень эмбриональной смертности после имплантации, так и на мутационный процесс в клетках костного мозга у мышей опытных групп. Следовательно, он не обладает мутагенной активностью.

9. **Ehling U.H.** Comparison of radiation and chemically induced dominant lethal mutations in male mice//Mutant. res. 1971. Vol.11, №1. P. 35.
10. **Foulds L.** Neoplastic development. London-New York. Acad. Press, 1969.
11. **Laursen L.** Chemotherapy of malignant tumors a self-defeating form of immunotherapy //Medical Hypotheses. 1989. Vol.29. P. 9–15.
12. **Manzo G.** Phylogenesis – ontogenesis – oncogenesis//Medical Hypotheses. 1989. Vol. 30, №4. P. 259–263.
13. **Nowell P.** The clonal evolution of tumor cells populations//Science. 1986. Vol.76. P. 375–383.
14. **Reynold C.P.** Characterization of human neuroblastoma cell lines established before and after therapy//J. Nat. Cancer Inst. 1986. Vol.76. P. 375–383.
15. **Sasaki M., Makino S.** The meiotic chromosomes of man//Chromosoma. 1965. Vol.16. P. 637.
16. **Sato T., Akiyama F., Sakamoto G. et al.** Accumulation of genetic alterations and progression of primary breast cancer//Cancer Res. 1991. Vol.51. P. 5794–5799.

## Study of xenon difluoride influence on mammarian cancer growth in mice

**H. H. Semenov, N. N. Karkischenko, G. D. Kapanadze, A. A. Artuhov,  
A. A. Artuhov, T. B. Beskova, E. L. Matveenko, A. O. Revyakin**

Influence of xenon difluoride on survival time of mice with I and II tumor stage breast cancer was studied. Xenon difluoride was injected in dosage 12,5mg/kg. The mice were taken from a population Kv:SHK, which is bred in a branch «Andreevka» of the Scientific Center of Biomedical technologies of RAMS. According to the research results, medicine had no significant influence on survival time of mice with breast cancer. All 80 mice in a study group and 40 mice in a control group died during 4 months. Xenon difluoride had no mutagenic effect on male germ sells (DL method) and on bone marrow cells (cytogenetic analysis).

**Key words:** breast, cancer, xenon difluoride XeF<sub>2</sub>, cytogenetic analysis, chromosome aberration.



## Антитоксические, противоотечные и гемореологические свойства осмотического диуретика полиосма при остром отравлении изопропиловым спиртом

М. Б. Плотников, В. И. Смольякова, Г. А. Чернышева, И. С. Иванов,  
В. Ю. Лапицкий

*НИИ фармакологии СО РАМН, Томск*

*Контактная информация: Плотников Марк Борисович, – руководитель лаборатории фармакологии кровообращения НИИФ ТНЦ РАМН, д.б.н., профессор  
634028. г. Томск, пр. Ленина, 3, e-mail: mbp2001@mail.ru*

Терапия острого отравления изопропиловым спиртом у крыс с использованием осмотического диуретика полиосма существенно замедляет развитие отека легких, ограничивает формирование синдрома повышенной вязкости крови и предупреждает гибель животных к 1 сут. после отравления. Показано, что применение полиосма при отравлении алифатическими спиртами более эффективно, чем использование маннита.

**Ключевые слова:** острое отравление, изопропиловый спирт, реология крови, полиосм.

Актуальность проблемы острых отравлений многоатомными алифатическими спиртами и эффективной терапии токсических состояний в последнее время возросла. Изопропиловый спирт (ИП) широко применяется в качестве органического растворителя при производстве косметических средств и бытовой химии, как ингредиент к незамерзающим жидкостям, а также в аптечном деле [5]. Широкое распространение средств, содержащих изопропиловый спирт, и наркотический эффект, вдвое превосходящий этанол, делают данный многоатомный спирт причиной бытовых отравлений при приеме внутрь [5, 6].

Летальность при острых отравлениях многоатомными спиртами остается ста-

бильно высокой. Это во многом определяется высокой резорбцией алифатических спиртов. При приеме внутрь ИП резорбируется в течение 0,5 ч. Такая быстрая резорбция объясняется высокой липофильностью алифатических спиртов [6]. Смертельной дозой ИП при приеме внутрь для взрослых считают 240 мл, уровни смертельной концентрации варьируют от 0,04 мг/л у детей до 4,4 мг/л у взрослых [3, 6]. Отравления ИП протекают с развитием сопора или комы на фоне гипотензии, тахикардии, гипотермии, может наблюдаться остановка дыхания. В лечении отравления спиртами помимо гемодилюции применяют форсированный диурез с ошелачиванием плазмы крови, в том числе с

использованием осмотических диуретиков [1, 3, 9].

Полиосм является новым осмотическим диуретиком, разработанным в НИИ фармакологии СО РАМН, для которого характерен мощный диуретический и натриуретический эффект. Препарат оказался весьма эффективным у больных глаукомой, отечными макулопатиями различного генеза, при операциях на глазах [7].

Целью данной работы явилось исследование эффективности антитоксического действия полиосма, представляющего собой 30% раствор полиэтиленоксид 400, при остром отравлении ИП в сравнении с маннитом и выявление гемореологических и противотечных эффектов препарата в терапии токсического поражения экспериментальных животных.

### Материалы и методы

Эксперименты проведены на 40 крысах-самцах линии Вистар массой 270–300 г. Животные получены из клиники лабораторных животных НИИ фармакологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (г. Томск). Животные до эксперимента содержались в виварии на стандартной кормовой диете.

Острое отравление у крыс производили внутрижелудочным введением изопропилового спирта (6,6 мл/кг). Через 30 мин. после отравления однократно внутривенно вводили маннит в дозе 1 г/кг 30% раствора, полиосм в дозе 1 г/кг 30% раствора полиэтиленоксида 400 или эквивалентное количество изотонического раствора натрия хлорида (контроль). Кроме этого, у интактных крыс оценивали все исследуемые показатели для установления их нормальных значений.

У половины крыс в каждой группе до и через 4 ч после отравления изопропи-

ловым спиртом и 3,5 ч после внутривенного введения изотонического раствора натрия хлорида, маннита или полиосма определяли: температуру тела, частоту дыхания, осмолярность плазмы. В течение 4 ч после отравления определяли объем выделившейся мочи. Через 4 ч после отравления в пробах крови измеряли гемореологические показатели: вязкость цельной крови, вязкость плазмы, гематокрит, полупериод агрегации эритроцитов.

У другой половины животных для установления антитоксической активности через 24 ч после отравления изопропиловым спиртом и 23,5 ч после внутривенного введения изотонического раствора натрия хлорида, маннита или полиосма определяли выживаемость.

Ректальную температуру измеряли электротермометром ТПЭМ-1. Частоту дыхания рассчитывали визуально по секундомеру за 1 мин. Содержание воды в ткани легких крыс оценивали гравиметрическим способом. Сушку ткани легких проводили в воздушном стерилизаторе ВС-40 при 100°C в течение 60 мин. Взвешивание проводили после высушивания ткани органов крыс до постоянной массы сухого остатка. Для установления диуретической активности препаратов проводили сбор мочи у крыс, помещая животных в обменные домики. Осмотическую активность плазмы крови у крыс измеряли на приборе ОМКА 1Ц-01. Вязкость цельной крови и плазмы исследовали в вискозиметре АКР-2 [4]. В качестве стабилизатора использовали 3,8% раствор натрия цитрата. Агрегацию эритроцитов изучали с помощью силлектометрического метода [2] в нашей модификации [8]. Критерием агрегационной активности эритроцитов служил полупериод агрегации  $T_{1/2}$  – время, за кото-

рое величина фотометрического сигнала снижается в два раза. Эвтаназию животных проводили передозировкой эфирного наркоза.

Для статистической обработки данных использовали пакет программного обеспечения «Statistica 6.0». Рассчитывали среднее значение, стандартную ошибку, для выявления межгрупповых различий использовали U-тест Манна-Уитни.

## Результаты

Температура тела интактных животных в течение 4 ч не изменялась и составила  $38,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$ . Частота дыхания у крыс данной группы была стабильна –  $115 \pm 6$  мин<sup>-1</sup>. Осмолярность плазмы изменялась в пределах физиологических границ. Объем мочи, выделившейся за 4 ч, был равен  $1,28 \pm 0,14$  мл. Содержание воды в легких составило  $79,40 \pm 0,06\%$  (табл. 1, интактные).

У животных контрольной группы к 4 ч после отравления ИП отмечалось ухудшение общего состояния, выразившееся в статистически значимом по сравнению с исходными значениями снижении температуры тела на 15%, частоты дыхания на 42% и возрастании осмолярности плазмы крови на 15%. Объем мочи, выделившейся за 4 ч, не отличался от показателя интактных животных и составил  $1,34 \pm 0,04$  мл. К 4 ч выявлен отек легких, выразившийся в возрастании содержания воды до  $81,87 \pm 0,4\%$ , что было на 3% выше ( $p < 0,05$ ), чем показатель интактных животных. В течение первых суток после отравления изопропиловым спиртом все животные контрольной группы погибли (табл. 1, контроль).

У животных, отравленных ИП и получивших внутривенно маннит, к 4 ч наблюдения происходило закономерное ( $p < 0,05$ ) снижение температуры тела на

9%, частоты дыхания на 34% и возрастание осмолярности плазмы на 12% по сравнению с исходными значениями. Объем мочи, выделившейся за 4 ч после внутривенного введения маннита, составил  $2,0 \pm 0,2$  мл, что было больше на 56% и на 49% показателей интактных и контрольных животных соответственно ( $p < 0,05$ ). К 4 ч содержание воды в легких составило  $79,51 \pm 0,18\%$ , что не отличалось от показателя интактных животных и было на 3% ( $p < 0,05$ ) достоверно ниже значений у контрольных животных. Внутривенное введение маннита в дозе 1 г/кг повышало выживаемость животных в течение первых суток после внутрижелудочного введения изопропилового спирта в дозе 6,6 мл/кг на 30% по сравнению с контрольной группой (табл. 1, маннит).

У животных, отравленных ИП и получивших полиосм, к 4 ч наблюдения происходило снижение температуры тела с  $37,9 \pm 0,1^\circ\text{C}$  до  $36,3 \pm 0,3^\circ\text{C}$ , что было на 12% выше показателя контрольных животных и на 5% выше значения в группе с внутривенным введением маннита. Отмечалось умеренное снижение частота дыхания – с  $115 \pm 3$  до  $102 \pm 7$  мин<sup>-1</sup>, что было на 62% ( $p < 0,05$ ) выше показателя контрольных животных. Осмолярность плазмы возрастала на 15% от исходного значения. Объем мочи, выделившейся за 4 ч, составил  $2,94 \pm 0,24$  мл, и был в 1,2 раза больше ( $p < 0,05$ ), чем у контрольных крыс. К 4 ч содержание воды в легких составило  $79,72 \pm 0,20\%$ , что было аналогично показателю интактных животных и на 3% ниже контрольных значений ( $p < 0,05$ ). В группе животных, отравленных ИП в дозе 6,6 мл/кг и получивших полиосм, выживаемость составила 100%, что существенно превосходило эффект маннита (табл. 1, полиосм).



Вязкость крови у интактных животных при скорости сдвига от 3 до и 300 с<sup>-1</sup> изменялась от 7,3±0,1 до 3,9±0,1 мПа•с при гематокрите 43±1%. Полупериод агрегации эритроцитов в группе интактных животных составил 18,6±1,1 с (табл. 2, интактные).

Исследования реологических свойств крови у животных контрольной группы при отравлении ИП показали, что у крыс развивался синдром повышенной вязкости крови: вязкость крови значительно увеличивалась во всем диапазоне исследуемых скоростей сдвига на 26% – 66% по сравнению с интактными животными, при этом вязкость плазмы и гематокрит не изменялись. Полупериод агрегации эритроцитов в контрольной группе составил 6,2±0,7 с, что было на 67% (p<0,05) ниже значения интактных животных (табл. 2, контроль).

Таким образом, введение крысам изопропилового спирта приводило к развитию синдрома повышенной вязкости крови, что также можно считать токсическим проявлением данного отравления.

При отравлении ИП у животных после внутривенного введения маннита также наблюдалось развитие синдрома повышенной вязкости крови. При скорости сдвига 3–300 с<sup>-1</sup> вязкость крови увеличилась на 40–26% соответственно по сравнению с интактными животными. Полупериод агрегации эритроцитов по сравнению с контрольной группой возрастал на 42%, однако это увеличение не достигало уровня статистической значимости (табл. 2, маннит).

При отравлении ИП у животных после внутривенного введения полиосма отмечалось ограничение развития синдрома повышенной вязкости крови: при скорости сдвига 3–300 с<sup>-1</sup> вязкость крови

составила 7,9±0,6 – 3,9±0,1 мПа•с соответственно. Вязкость крови животных опытной группы в диапазоне скоростей сдвига 7–300 с<sup>-1</sup> была значимо ниже на 20–30% значений у контрольных крыс и на 19–25% значений у крыс, леченных маннитом, (p<0,05). Полупериод агрегации эритроцитов по сравнению с контрольной группой достоверно увеличился на 81% (табл. 2, полиосм).

### Обсуждение результатов

У крыс после внутрижелудочного введения ИП развивалось острое отравление с нарушением ряда основных физиологических показателей. Поражение центральной нервной системы проявлялось в развитии состояния сопора с нарушением регуляторных функций мозга, выразившемся в гипотермии и угнетении дыхания. Это обусловлено как высокой липофильностью ИП, так и тем обстоятельством, что параллельно резорбции спирта протекает его метаболизм с образованием ацетона, поражающего нервную ткань и внутренние органы [3, 5, 6].

Показано, что ацетонемия развивается уже через 15 минут после приема ИП внутрь [6]. У крыс контрольной группы развивался отек легких, поскольку элиминация ацетона и ИП происходит в основном через легкие, и формировался синдром повышенной вязкости крови, нарушающий процессы микроциркуляции и являющийся одним из патогенетических механизмов развития поражения нервной и легочной систем. Повышение вязкости крови может быть связано с высокой липофильностью ИП и его метаболита, за счет чего происходит нарушение целостности мембранного комплекса клеток крови. Отек легких замедляет удаление ИП и его метаболита

Таблица 1

**Влияние внутривенного введения маннита (1 г/кг, 30% раствор) и полиосма (1 г/кг, 30% раствор полиэтиленоксида 400) на смертность и основные физиологические показатели при отравлении изопропиловым спиртом (6,6 мл/кг)**

Группа	Температура тела, °С		Частота дыхания, мин <sup>-1</sup>		Осмолярность плазмы, мм/кг		Объем выделившейся мочи, мл	Содержание воды в легких, %	Смертность, %
	Исходное значение	4 ч	Исходное значение	4 ч	Исходное значение	4 ч			
Интактные (n=5)	38,0±0,2	37,9±0,1	113±8	115±6	306±2	311±3	1,28±0,14	79,40±0,06	—
Контроль (n=5)	38,0±0,1	32,4±1,2*	109±5	63±9*	303±2	348±5*	1,34±0,04	81,87±0,40*	100
Маннит (n=5)	37,9±0,1	34,5±0,8*	116±3	77±18*	306±1	342±7*	2,0±0,21**	79,51±0,18+	70
Полиосм (n=5)	37,9±0,1	36,3±0,3**	115±3	102±7*	305±1	352±5*	2,94±0,24**#	79,72±0,20+	0

Примечание: \* – p<0,05 по сравнению со значениями у интактных животных;

+ – p<0,05 по сравнению со значениями в группе контроля;

# – p<0,05 по сравнению со значениями в группе животных с внутривенным введением маннита

Таблица 2

**Влияние внутривенного введения маннита (1 г/кг, 30% раствор) и полиосма (1 г/кг, 30% раствор полиэтиленоксида 400) на показатели реологии крови при отравлении изопропиловым спиртом (6,6 мл/кг)**

Группа	Вязкость крови, мПа·с						Вязкость плазмы, мПа·с	Ht, %	Полупериод агрегации эритроцитов, с
	3 с <sup>-1</sup>	5 с <sup>-1</sup>	7 с <sup>-1</sup>	10 с <sup>-1</sup>	50 с <sup>-1</sup>	100 с <sup>-1</sup>			
Интактные (n=5)	7,3±0,1	6,7±0,2	6,3±0,2	6,0±0,1	4,4±0,1	4,2±0,1	1,3±0,1	43±1	18,6±1,1
Контроль (n=5)	12,1±1,5*	10,8±1,1*	9,9±1,0*	9,2±1,0*	6,4±0,5*	5,6±0,4*	4,9±0,2*	44±1	6,2±0,7*
Маннит (n=5)	10,2±0,4*	9,6±0,3*	9,3±0,3*	8,4±0,1*	6,1±0,2*	5,4±0,1*	4,9±0,1*	45±1	8,8±1,7*
Полиосм (n=5)	7,9±0,6**	7,6±0,7*	7,1±0,4**	6,8±0,4**	4,6±0,1**	4,2±0,1**	3,9±0,1**	44±1	11,2±2,3*+

Примечание: \* – p<0,05 по сравнению со значениями у интактных животных;

+ – p<0,05 по сравнению со значениями в группе контроля;

# – p<0,05 по сравнению со значениями в группе животных с внутривенным введением маннита

из организма, а поражение органов и систем коррелирует с уровнем токсиканта в крови, что замыкает порочный круг.

Терапия отравления ИП с использованием маннита увеличивала диурез и ослабляла отек легких, что уменьшало отрицательные сдвиги основных физиологических показателей. Маннит оказался недостаточно эффективным в предупреждении развития синдрома повышенной вязкости крови при отравлении ИП.

Внутривенное введение полиосма в дозе 1 г/кг после отравления ИП защищало животных от гибели, увеличивало диурез, предупреждало развитие отека легких и существенно улучшало основные физиологические показатели (температуру тела, частоту дыхания). Полиосм за счет мощного диуретического эффекта предупреждал развитие отека легких, чем способствовал ускорению элиминации токсиканта и его метаболита из организма. При отравлении ИП полиосм отчетливо ограничивал развитие синдрома повышенной вязкости крови,

что могло способствовать сохранению эффективного газообмена в легких и тем самым способствовать снижению уровня ИП и ацетона.

Положительный эффект терапии полиосмом острого отравления ИП подтверждается отсутствием гибели животных через 24 ч после внутрижелудочного введения токсиканта.

## Выводы

1. При отравлении крыс изопропиловым спиртом в дозе 6,6 мл/кг через 4 ч наблюдается развернутая клиническая картина острого отравления с одновременным формированием синдрома повышенной вязкости крови.

2. Терапия отравления изопропиловым спиртом с использованием полиосма повышает выживаемость животных, улучшает состояние жизненно важных функций организма, а также ограничивает развитие синдрома повышенной вязкости крови, вызванного отравлением алифатическим спиртом.

## Список литературы

1. *Большая* Российская энциклопедия лекарственных средств. М.: Ремедиум, 2001. С. 376.
2. *Габриэлян Э.С., Акопов С.Э.* Клетки крови и кровообращение. Ереван: Айастан, 1985. С. 71–78.
3. *Глезер Г.А.* Диуретики. М.: Интербук-бизнес, 1993. С. 81.
4. *Добровольский Н.А., Лопухин Ю.М., Парфенов А.С., Пешков А.В.* Анализатор вязкости крови//в кн.: Реологические исследования в медицине. М., 1997. Вып. 1. С. 45–51.
5. *Лужников Е.А., Костомарова Л.Г.* Острые отравления: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1989. с. 287.

6. *Маркова И.В., Афанасьев В.В., Цибулькин Э.К.* Клиническая токсикология детей и подростков. СПб.: Интермедика, 1999. Ч. 2. С. 92.

7. *Плотников М.Б.* Препараты полиэтиленоксида 400 в офтальмологии и невропатологии. Томск: Изд. Том. ун-та, 2002. 78 с.

8. *Плотников М.Б., Алиев О.И., Попель Ф.В.* Модификация микроколориметра МКМФ-1 для регистрации агрегации эритроцитов//Клин. лаб. диагностика. 1995. № 3. С. 457–458.

9. *Oken D.E.* Renal and extrarenal considerations in high-dose mannitol therapy. Ren. Fail. 1994. Vol.16. P. 147–159.

## **Antitoxic, antiedemic and hemorheological properties of osmolar diuretic polyosm in acute isopropanol intoxication**

**M. B. Plotnikov, G. A. Chernisheva, V. I. Smoljakova, I. S. Ivanov, V. J. Lapitski**

New diuretic – polyosm – significant reduced the development of pulmonary edema, suppressed the formation of blood “hyperviscosity” and decreased the death rate of animals on 1 day after isopropanol intoxication. Our investigations demonstrated that polyosm more efficiently than mannite in therapy of aliphatic spirits intoxication.

**Key words:** acute intoxication, isopropanol, blood rheology, polyosm.

## Доклинические исследования препаратов природного происхождения в условиях цитостатического воздействия

О. С. Борсук, Н. В. Масная, А. А. Чурин, Е. Ю. Шерстобоев

*Научно-исследовательский институт фармакологии СО РАМН, Томск*

*Контактная информация: Борсук Ольга Сергеевна*

*634034, г. Томск, ул. Косарева, д.33, кв.169, Россия. e-mail: nvm13@rambler.ru.*

*тел. 8(3822) 418377*

Применение экстракта шлемника байкальского в условиях развивающейся цитостатической гемодепрессии, вызванной однократным введением мышам линии СВА/СaЛас циклофосфана в максимально переносимой дозе, оказывает выраженное стимулирующее влияние на процессы восстановления в большей степени эритроидного и лимфоидного ростков кроветворения, а использование пантовита – на репарацию миелоидного и лимфоидного. Курсовое применение экстракта шлемника байкальского нивелирует иммуносупрессивное действие циклофосфана путем стимуляции фагоцитарной активности макрофагов и восстановления количества клеток-антителопродукторов. Введение пантовита иммунизированным мышам на фоне цитостатической иммуносупрессии вызывает повышение фагоцитарной активности макрофагов и усиление синтетической активности антителообразующих клеток.

**Ключевые слова:** мыши линии СВА/СaЛас, циклофосфан, препараты природного происхождения, кроветворная и иммунная системы.

Общеизвестно, что иммунная и кроветворная системы являются индикаторами приспособления организма к изменяющимся условиям внешней и внутренней среды [9, 12, 16]. Различные по своей природе экстремальные воздействия способны вызывать угнетение отдельных звеньев системы крови и иммунитета, что в свою очередь может привести к подавлению кроветворения и развитию вторичного иммунодефицитного состояния [12]. Применение противоопухолевых препаратов в онкологической практике до сих пор остается одним из основных способов воздействия на опухолевый процесс [1, 3, 7, 19]. Однако при таком методе лечения часто возникает цитостатическая болезнь, являющаяся следствием повреждения бы-

стро обновляющихся клеточных систем, к которым относятся также кроветворная и иммунная. Необходимость поиска патогенетически обоснованных методов достижения гомеостаза организма в таких случаях требует от исследователей поиска новых эффективных малотоксичных фармакологических корректоров [7, 13]. Многие используемые группы лекарственных средств не обеспечивают комплексной терапии, кроме того, обладают широким спектром побочных эффектов [15]. В свете изложенного становится очевидным необходимость поиска альтернативных средств, способных действовать на системном уровне, нетоксичных, с возможностью длительного применения, высокой биодоступностью. К таким препаратам относятся модифика-

торы биологических реакций, представителями которых являются препараты природного происхождения [4, 7].

Целью нашей работы явилась разработка патогенетически обоснованных методов фармакологической коррекции нарушений в кроветворной и иммунной системе, вызванных введением циклофосфана, с помощью препаратов природного происхождения.

### Материалы и методы

Эксперименты были проведены на 190 мышах обоего пола линии СВА/СаЛас массой 18–20 г в возрасте 2–2,5 месяцев. Животные 1 категории (конвенциональные линейные мыши) получены из коллекционного фонда лаборатории экспериментального биомедицинского моделирования НИИ фармакологии СО РАМН (сертификат имеется). Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). До и в период эксперимента мыши находились в стандартных пластиковых клетках (по 10–12 особей) с мелкой древесной стружкой на стандартном рационе. Все эксперименты были проведены в осенне-зимний период.

Экспериментальную модель цитостатической болезни создавали с помощью стандартного препарата циклофосфана (производство Саранского комбината «Биохимик»), который растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили мышам (n=20) однократно внутрибрюшинно в максимально переносимой дозе (250 мг/кг). Для исследования функциональной активности иммунной системы другую группу животных (n=20) иммунизировали корпуску-

лярным тимусзависимым антигеном – эритроцитами барана (ЭБ), полученными из НПО «Вирион». ЭБ трижды отмывали стерильным физиологическим раствором и вводили однократно внутрибрюшинно по 0,2 мл 15% взвеси эритроцитов. Для исследования функциональной активности иммунной и кроветворной систем после воздействия циклофосфаном на 4 сутки после введения противоопухолевого препарата мышей иммунизировали тимусзависимым антигеном (n=20). Для коррекции изменений в кроветворной и иммунной системах после цитостатического воздействия в работе использовали экстракт шлемника байкальского (ЭШБ) («ГНЦЛС», г. Харьков, Украина; стандартизован по содержанию байколина – 32–36%) и пантовит («Фармпанто», разрешен к применению на территории России, рег. №000954.3.643.06.99). Препараты вводили животным через зонд в желудок курсами, начиная со дня экспериментального воздействия и далее в течение 5 дней, в дозе 50 мг/кг в объеме 0,2 мл дистиллированной воды или 1% крахмального геля соответственно (n=40). Контрольным животным (получившим только циклофосфан) вводили соответствующий объем растворителя. Другую контрольную группу мышей (n=40), получивших препараты природного происхождения курсом, иммунизировали ЭБ на 5 сутки эксперимента (что соответствовало 4 суткам после введения циклофосфана). Иммунизировали мышей, получивших однократно циклофосфан и курсовое (5-дневное) введение препарата, на 4 сутки после введения цитостатика (n=40).

Мышей умерщвляли методом декапитации. Забор материала для исследования осуществляли на 4, 7, 14 и 21 сутки после иммунизации, что соответ-



ствуется 8, 11, 18 и 25 сутки после введения циклофосфана. Мышей умерщвляли методом декапитации под эфирным наркозом. Сравнение данных, полученных при изучении влияния препаратов природного происхождения на кроветворную и иммунную системы, производили с соответствующими значениями у мышей, получивших антиген и циклофосфан, либо только антиген, либо циклофосфан, либо антиген и препарат природного происхождения. В качестве фона использовали интактных мышей (n=10).

Изучение показателей кроветворных (костный мозг, периферическая кровь) и лимфоидных (тимус, селезенка) органов осуществляли стандартными гематологическими методами [6]. Определение антителобразующих клеток в селезенке (АОК) проводили методом локального гемолиза [22], уровень специфических антител в сыворотке крови – в реакции гемагглютинации [14]. Фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов (ФАПМ) определяли методом, основанным на измерении оптической плотности лизирующего раствора после разрушения фагоцитов, поглотивших частицы нейтрального красного [24]. Полученные в ходе исследования данные обрабатывали методом вариационной статистики. В случае нормального распределения сравнение выборочных средних осуществляли по критерию t-Стьюдента, при несоответствии распределения нормальному использовали непараметрический критерий Вилкоксона, Колмогорова–Смирнова с помощью пакета программ «Statistica 5.0».

### Результаты и их обсуждение

Как показали наши исследования, после однократного введения циклофосфана в максимально переносимой дозе

отмечалось снижение общего количества миелокариоцитов по сравнению с фоном, сохранявшимся на протяжении всего эксперимента. Анализ миелограмм позволил установить, что эта депрессия была обусловлена подавлением практически всех ростков гемопоэза, но в большей степени значительным снижением абсолютного числа эритроидных клеток (на 8, 11 и 18 сут.), незрелых нейтрофильных гранулоцитов (на 8 сут.), зрелых нейтрофильных гранулоцитов, моноцитов, эозинофилов и лимфоидных элементов на протяжении всего исследования. Как следствие угнетения костномозгового кроветворения, в периферической крови экспериментальных животных отмечалось развитие лейкопении на 8 сут. после цитостатического воздействия до 78% от уровня фона, при этом обращало на себя внимание резкое падение абсолютного числа лимфоидных клеток и эозинофилов. Количество палочкоядерных нейтрофилов также было ниже фоновых значений. Лимфопения сохранялась до конца исследования.

Изучение влияния ЭШБ на качественный и количественный состав миелокариоцитов после однократного воздействия циклофосфаном, позволило выявить, что введение препарата мышам линии СВА/СаЛас оказывало выраженное стимулирующее действие на процессы восстановления костномозгового кроветворения, подавленного цитостатиком. Так, общее количество клеток костного мозга уже на 8 сут. эксперимента достоверно превышало описанное в группе мышей, получивших только цитостатик, а на 18 и 25 сут. отмечалась достоверная гиперплазия кроветворного органа относительно интактных животных. Увеличение числа ядросодержащих элементов под действием ЭШБ было

обусловлено стимуляцией практически всех ростков гемопоэза, но, в основном, возрастанием содержания эритроидных и лимфоидных элементов. Несколько меньшая активность данного препарата была выявлена в отношении гранулоцитарного ростка кроветворения: абсолютное количество миелоидных клеток восстанавливалось до уровня интактных животных к 11 сут. и достоверно превышало значения данных показателей в группе сравнения на протяжении всего эксперимента.

Нами было выявлено, что у мышей, иммунизированных на 4 сут. после введения циклофосфана, клеточность костного мозга была снижена по сравнению с группой иммунизации на 4 и 7 сут. (рис. 1а) за счет уменьшения абсолютного числа эритроидных (рис. 1г), лимфоидных (рис. 1д) и зрелых миелоидных элементов (рис. 1в).

Исследование показателей костного мозга мышей, иммунизированных после введения ЭШБ на фоне гипоплазии кроветворения, вызванной однократным применением циклофосфана в максимально переносимой дозе, позволило установить, что общее количество миелокариоцитов у животных, получивших препарат шлемника, в значительной мере превышало описанное при введении только цитостатика и антигена во все сроки эксперимента (рис. 1а) за счет недифференцированных бластов, незрелых и зрелых нейтрофильных гранулоцитов (рис. 1б, в), эозинофилов, эритроидных (рис. 1г), лимфоидных (рис. 1д) и плазматических клеток, а также митозов. Динамика содержания зрелых клеток в периферической крови мышей данной опытной группы в целом соответствовала изменениям, описанным выше: содержание лимфоидных клеток существенно превышало данный показатель у живот-

ных, иммунизированных после введения циклофосфана на протяжении всего исследования.

Согласно данным литературы, ЭШБ способен стимулировать регенерацию костномозгового кроветворения, подавленного циклофосфаном, за счет усиления процессов пролиферации и дифференцировки коммитированных клеток-предшественников гемопоэза типа колониеобразующих единиц эритроидных и гранулоцитарно-макрофагальных (КОЕ-Э и КОЕ-ГМ) [1, 2, 19]. Кроме того, показано активирующее влияние исследуемого растительного экстракта на образование гемопоэтических островков и продукцию клеточными элементами гемопоэзиндуцирующего микроокружения короткодистантных гуморальных регуляторов типа эритропоэтической и колониестимулирующей активностей (ЭПА и КСА) и их уровень в периферической крови [1]. Вместе с тем, в наших исследованиях мы выявили возрастание содержания не только гранулоцитарных и эритроидных костномозговых клеток. Абсолютное количество лимфоидных элементов в костном мозге животных опытной группы превышало контрольные значения на протяжении всего эксперимента. В связи с вышеизложенным, мы предполагаем, что ЭШБ оказывает свое влияние не только на колониеобразующие единицы, которые впоследствии дают начало формированию моноцитов, эритроцитов и гранулоцитов, а на еще менее дифференцированные клетки-предшественники.

В значительной мере менее выраженное повреждение кроветворения в результате сочетанного введения противоопухолевого препарата и ЭШБ относительно мышей, получивших один циклофосфан, может быть связано с

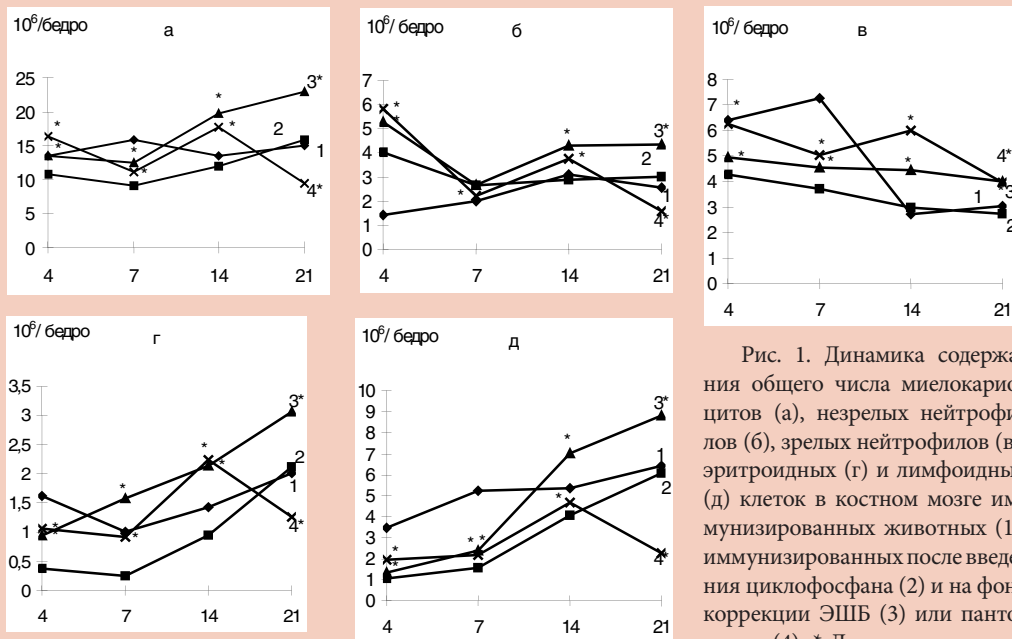


Рис. 1. Динамика содержания общего числа миелокарицитов (а), незрелых нейтрофилов (б), зрелых нейтрофилов (в), эритроидных (г) и лимфоидных (д) клеток в костном мозге иммунизированных животных (1), иммунизированных после введения циклофосфана (2) и на фоне коррекции ЭШБ (3) или пантовитом (4). \* Достоверность различий с контролем (p < 0,05).

прямым мембранопротективным действием исследуемого экстракта. Известно, что метаболиты циклофосфана обладают способностью концентрироваться в клеточных, митохондриальных и микросомальных мембранах и, включаясь в свободнорадикальную фракцию, индуцировать перекисное окисление последних, продукты которого нарушают их структуру и функции, что в свою очередь приводит к нарушению всех клеточных процессов, протекающих с участием энергии [17]. В работе Р. Р. Сайфутдинова [20] показано, что байкалин, являющийся основным действующим флавоноидом ЭШБ, обладает способностью препятствовать дезинтеграции мембранных структур и предотвращать нарушения активности митохондриального аппарата в связи с прямым мембранотропным действием. Этот эффект проявляется нормализацией степени со-

пряженности окислительного фосфорелирования. Превращение байкалина обеспечивает поток атомов водорода от восстановленных пиридиннуклеотидов (НАДФН и НАДН) через токоферол и, возможно убехинон, на гашение свободных радикалов липидов. При этом байкалин служит донором водорода для фермента глутатион-пероксидазы.

Введение пантовита линейным мышам, иммунизированным тимусзависимым антигеном на 4 сут. после воздействия противоопухолевым препаратом, привело к увеличению общего количества миелокарицитов на 4, 7 и 14 сут. после антигенной стимуляции по сравнению с контрольной группой (животные, получившие ЭБ и противоопухолевый препарат) (рис. 1а). Повышение числа ядросодержащих клеток костного мозга на указанные выше сроки исследования было связано преимущественно с

возрастанием содержания лимфоидных (рис. 1д) и эритроидных (рис. 1г) элементов. Общее содержание лейкоцитов в периферической крови мышей данной опытной группы достоверно превышало контрольные значения на 7 сут. после антигенной стимуляции за счет увеличения абсолютного числа миелоидных и лимфоидных клеток.

О механизмах стимулирующего действия пантовита можно судить по многочисленным исследованиям, указывающим на эффективность применения препаратов из пантов оленя в условиях подавленного кроветворения. В частности, показано, что в условиях гипоплазии костного мозга, развивающейся под действием циклофосфана, пантогематоген стимулирует процессы костномозгового грануломоноцитопоэза и эритропоэза. В основе активирующего влияния препарата на процессы костномозгового кроветворения лежит увеличение продукции адгезирующими клеточными элементами гемопоэзиндуцирующего микроокружения короткодистантных гуморальных регуляторов (КСА и ЭПА), стимуляция образования гемопоэтических островков, процессов пролиферации коммитированных клеток–предшественников грануломоноцитопоэза типа КОЕ-Э и КОЕ-ГМ [3, 21]. По-видимому, пантовит, обладая схожим химическим составом, оказывает подобное действие.

Кроме того, интерпретируя полученные данные, не следует забывать о ноотропных свойствах пантовита. Было показано, что пантовит существенно увеличивает выживаемость и восстановление функций центральной нервной системы после гипоксической травмы у мышей, одновременно предохраняя внутренние органы и системы от повреждающего действия неврологических

и стрессовых ситуаций [18]. Таким образом, вполне вероятно, что в основе активации данным препаратом гемопоэза лежит модуляция тонуса вегетативной нервной системы (ВНС), которая, в свою очередь, действует через гипоталамо-гипофизарный комплекс и через нервные волокна, иннервирующие различные органы гемопоэза (селезенка, костный мозг, тимус, лимфоузлы) [4, 5, 12]. При этом лимфоциты и макрофаги вступают в непосредственные контакты с нервными волокнами и, обладая соответствующим рецепторным аппаратом, воспринимают нервно-регуляторные влияния [8, 23]. Подтверждением справедливости данного предположения могут служить результаты исследования В. М. Рыжакова [19], в которых проведена комплексная оценка участия ВНС в регуляции гемопоэза у онкологических больных в условиях проведения полихимиотерапии. Автором убедительно доказано стимулирующее влияние ЭШБ, являющегося ноотропным средством, на процессы восстановления костномозгового кроветворения за счет модуляции тонуса и реактивности вегетативной нервной системы.

По результатам наших исследований, после однократного введения циклофосфана мышам общая клеточность селезенки оставалась достоверно ниже фоновых значений во все сроки исследования. Анализ спленограмм позволил установить, что в указанный период имело место резкое падение абсолютного числа лимфоидных клеток (до 19,2% от уровня фона на 8 сут.), моноцитов (с 21,5% на 8 сут. до 7,1% на 25 сут. от уровня фона), и эозинофилов (до 54,5% от уровня фона на 11 сут.). В то же время содержание недифференцированных бластных клеток, незрелых форм нейтро-

фильных гранулоцитов, митозов и эритроидных клеток было повышено во все сроки исследования.

Однократное введение противоопухолевого препарата мышам стало причиной резкого снижения клеточности центрального лимфоидного органа, сохранившегося на протяжении всего эксперимента. Минимальная клеточность тимуса была зафиксирована на 11 сут. исследования (до 14,8% от уровня фона). Падение клеточности было обусловлено значительным понижением абсолютного числа лимфоидных клеток всех степеней зрелости. Вместе с тем, было зарегистрировано высокое содержание незрелых и зрелых нейтрофилов и ретикулярных клеток во все сроки исследования, а также митозов на 25 сут.

Общее число ядросодержащих элементов лимфоидных органов мышей, получивших ЭШБ после введения циклофосфана, превышало значения животных, получивших только цитостатик, во все сроки исследования, что, по-видимому, явилось следствием миграции костномозговых нуклеаров. Как известно, незрелые Т- и В-лимфоциты мигрируют из костного мозга в лимфоидные органы для дальнейшей дифференцировки. Подтверждением высказанного предположения может служить повышенное содержание бластов и митозов на 8, 11 и 18 сут. в селезенке и на 18 и 25 сут. в тимусе относительно фоновых значений. Помимо перемещения клеток из кроветворного органа, существенное увеличение абсолютного числа эритроидных элементов в селезенке, возможно, связано с активацией процессов пролиферации и дифференцировки эритроидных прекурсоров под действием продуктов распада зрелых эритроцитов, вызванного введением циклофосфана.

Кроме того, ЭШБ, вероятно, действуя на ЮГА почек через нейроэндокринный аппарат, способствует выработке эритропоэтина [1]. Выявленное нами увеличение общей клеточности лимфоидных органов у животных, получивших исследуемый препарат, по сравнению с группой, получившей только цитостатик, явилось следствием повышения содержания преимущественно миелоидных клеток всех форм зрелости и, в значительной степени, лимфоидных.

Изучение влияния иммунизации, осуществленной на 4 сут. после однократного введения цитостатического препарата, на изменение клеточности и морфологического состава лимфоидных органов позволило выявить статистически значимое снижение общего числа ядросодержащих элементов (рис. 2а, 3а) преимущественно за счет уменьшения абсолютного количества лимфоидных элементов (рис. 2, 3д). В то же время нами было отмечено существенное увеличение количества бластов, митозов и плазматических клеток, а также миелоидных элементов (рис. 2, 3б, в).

Под действием ЭШБ у иммунизированных после введения циклофосфана мышей было выявлено увеличение общего количества ядросодержащих элементов лимфоидных органов (рис. 2а, 3а). Анализ сплено- и тимограмм позволил установить, что увеличение общей клеточности селезенки под влиянием ЭШБ было обусловлено, в основном, стимуляцией эритроидного (рис. 2г) и лимфоидного (рис. 2д) ростков гемопоэза, а тимуса – повышением содержания миелоидных (рис. 3б, в) клеток, что, вероятно, связано с миграцией их из костного мозга.

Выявленное нами увеличение общей клеточности лимфоидных органов у животных, получивших пантовит и цикло-

фосфан, по сравнению с группой мышей, получивших только цитостатик, явилось следствием повышения содержания преимущественно миелоидных клеток всех форм зрелости и, в значительно меньшей степени, лимфоидных.

Исследование показателей селезенки мышей, иммунизированных ЭБ после введения пантовита на фоне однократного применения циклофосфана, позволило установить, что общее количество ядродержащих элементов у животных, получивших природный препарат, достоверно превышало описанное в контроле на 4 сут. эксперимента (рис. 2а). Увеличение общей клеточности селезенки под действием пантовита было обусловлено, в основном, стимуляцией эритроидного (рис. 2г) и лимфоидного ростков гемопоэза (рис. 2д). На 14 и 21 сут. после введения антигена общее число спленоцитов мышей, получивших пантовит, не отличалось достоверно от показате-

телей животных контрольной группы. Вместе с тем, нами было зафиксировано увеличение содержания незрелых на 14 сут. и зрелых форм нейтрофильных гранулоцитов на 14 и 21 сут. (рис. 2б, в). Исследование показателей тимуса мышей данной опытной группы позволило установить, что общее количество тимоцитов у животных, получивших изучаемый препарат, в значительной мере превышало описанное в контроле лишь на 14 сут. эксперимента (рис. 3а) за счет возрастания абсолютного числа лимфобластов (рис. 3г) и средних лимфоцитов (рис. 3д).

В наших экспериментах было установлено, что абсолютное количество АОК в селезенке мышей, иммунизированных после введения циклофосфана, было существенно снижено относительно группы только иммунизированных животных на 7 сут. исследования (рис. 4а).

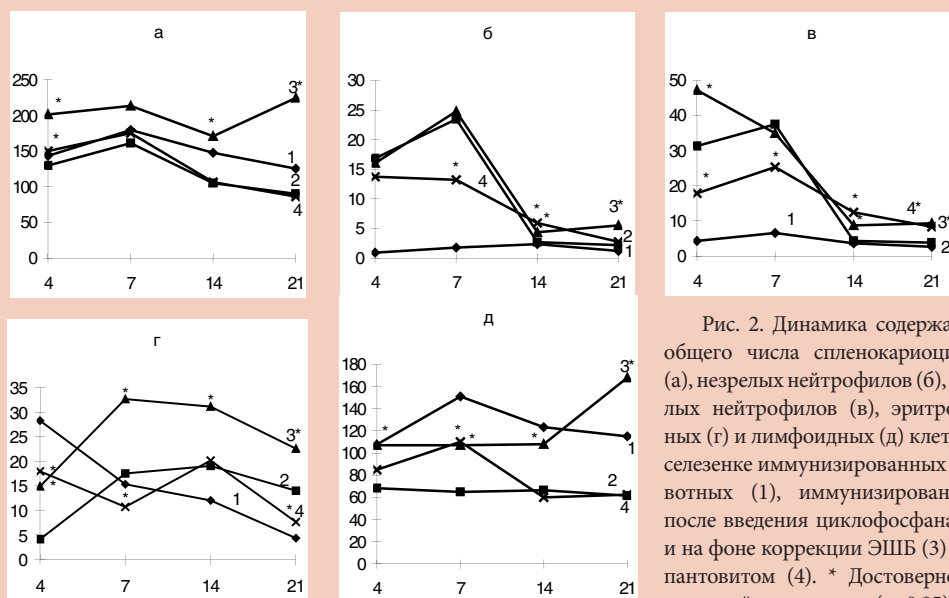


Рис. 2. Динамика содержания общего числа спленокариоцитов (а), незрелых нейтрофилов (б), зрелых нейтрофилов (в), эритроидных (г) и лимфоидных (д) клеток в селезенке иммунизированных животных (1), иммунизированных после введения циклофосфана (2) и на фоне коррекции ЭШБ (3) или пантовитом (4). \* Достоверность различий с контролем ( $p < 0,05$ ).



Введение животным ЭШБ на фоне сочетанного применения цитостатика и ЭБ привело к увеличению содержания АОК в селезенке на 7, 14 и 21 сут. относительно контрольной группы (рис. 4а). Это, вероятно, связано со способностью ЭШБ препятствовать токсическому действию циклофосфана на лимфоидные клетки за счет прямого мембранотропного эффекта [20], а также способностью ЭШБ стимулировать регенерацию костномозгового кроветворения, подавленного циклофосфаном, за счет усиления процессов пролиферации и дифференцировки коммитированных клеток-предшественников гемопоэза. Более низкое, нежели у контрольных животных, количество АОК на 4 сут. эксперимента, возможно, связано с увеличением под действием ЭШБ абсолютного числа эритроидных клеток в селезенке мышей, которые оказывают супрессорное влияние на ранние этапы индукции гумораль-

ного иммунного ответа через продукцию растворимых факторов [10, 11].

Курсовое применение пантовита на фоне цитостатического воздействия и иммунизации тимусзависимым антигеном стало причиной увеличения содержания АОК в селезенке мышей относительно контрольной группы на 7 сут. исследования (рис. 4а) вследствие возрастания под действием исследуемого препарата общей клеточности данного иммунокомпетентного органа и количества лимфоидных клеток в частности.

При исследовании в сыворотке крови животных, иммунизированных на фоне введения цитостатического препарата, уровня специфических антител было выявлено снижение уровня IgM на 4 и 7 сут. и IgG на 4 сут относительно мышей с иммунизацией (рис. 4б, в).

Введение животным ЭШБ на фоне развивающейся цитостатической иммуносупрессии и последующей иммуниза-

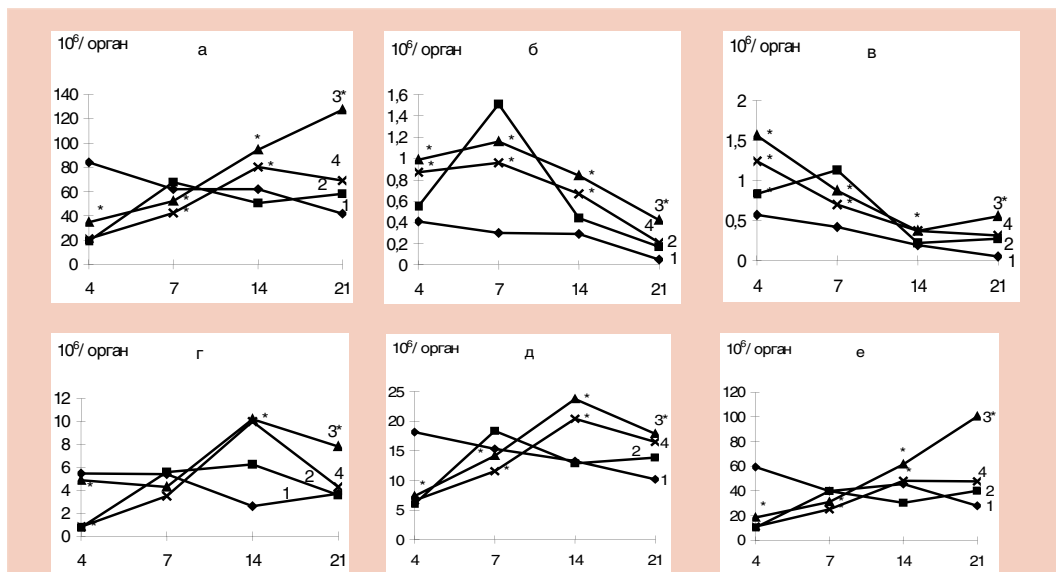


Рис. 3. Динамика содержания общего числа тимоцитов (а), незрелых нейтрофилов (б), зрелых нейтрофилов (в), лимфобластов (г), средних лимфоцитов (д) и малых лимфоцитов (е) в тимусе иммунизированных животных (1), иммунизированных после введения циклофосфана (2), и на фоне коррекции ЭШБ (3) или пантовитом (4). \* Достоверность различий с контролем (p<0,05).

ции не оказывало выраженного стимулирующего влияния на продукцию IgM клетками-антителопродуцентами и способствовало увеличению титра IgG на 4 и 21 сут. эксперимента по сравнению с животными контрольной группы (рис. 4б, в). Применение пантовита в условиях введения цитостатика и тимусзависимого антигена способствовало повышению титра IgM на 7, 14 и 21 сут. и IgG на 4 и 21 сут. после иммунизации относительно контрольных мышей (рис. 4б, в).

Сочетанное применение цитостатика и ЭБ привело к увеличению ФАПМ на 4 сут. после иммунизации как относительно интактных животных, так и иммунизированных мышей с последующим снижением до уровня фона и повторно-

му повышению данного показателя на 21 сут. (рис. 4г).

Антигенная стимуляция мышей, получивших циклофосфан и ЭШБ, привела к активации ФАПМ на 7 сут. после иммунизации (рис. 4г) относительно контрольных мышей вследствие, вероятно, прямого действия исследуемого препарата на макрофаги [2, 19]. ФАПМ у животных, получивших пантовит, существенно превышала показатели контрольной группы на 4 и 7 сут. после иммунизации ЭБ.

Таким образом, применение экстракта шлемника байкальского у мышей линии СВА/СаЛас, получивших циклофосфан в дозе 250 мг/кг, способствовало более раннему восстановлению морфологического состава кроветворных

(преимущественно за счет лимфоидного и эритроидного ростков кроветворения, и, позднее, миелоидного) и лимфоидных органов (лимфоидные и эритроидные элементы). По сравнению с мышами, получившими циклофосфан и антиген, у животных, иммунизированных после введения циклофосфана и получивших курсовое введение экстракта шлемника байкальского, выявлена более выраженная стимуляция кроветворения за счет лимфоидного, эритроидного, миелоидного ростков, в лимфоидных органах за счет эритроидных (селезенка), лимфоидных (селезенка, тимус) и миелоидных клеток (тимус). Курсовое введение ЭШБ повышало возможность иммунной системы отвечать

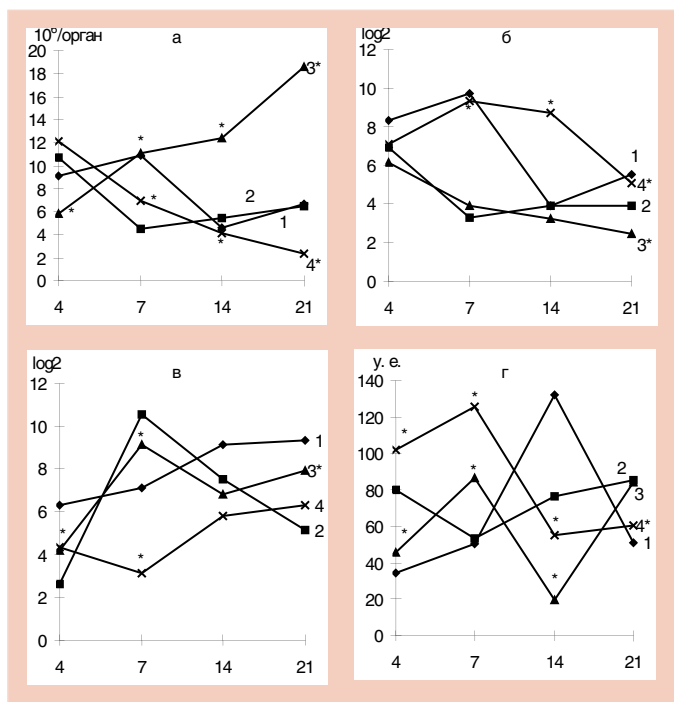


Рис. 4. Динамика содержания антителообразующих клеток в селезенке (а), титра IgM (б), IgG (в) в сыворотке крови и фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов (г) у иммунизированных животных (1), иммунизированных после применения циклофосфана (2) и на фоне коррекции ЭШБ (3) или пантовитом (4). \* - Достоверность различий с контролем ( $p < 0,05$ )

на введение тимусзависимого антигена в сравнении с группой мышей, получивших только цитостатик и антиген, за счет увеличения количества лимфоидных клеток в селезенке, стимуляции фагоцитарной активности макрофагов, увеличения числа антителопродуцирующих клеток.

Курсовое введение пантовита мышам, получившим циклофосфан, приводило к стимуляции костномозгового кроветворения преимущественно за счет эритроидного и лимфоидного ростков, возрастанию числа клеток в лимфоидных органах, в большей степени за счет миелоидных и, в меньшей, лимфоидных. Применение пантовита у мышей, получивших цитостатик и антиген, стимулировало лимфоидный и эритроидный ростки в костном мозге и селезенке. В тимусе активация регенераторных процессов запускалась позже, чем в других исследованных органах. Введение пантовита мышам, получившим циклофосфан, приводило к большей стимуляции иммунной системы, чем у мышей, получивших только цитостатик и антиген: повышению ФАПМ, повышению уровня

АОК в селезенке, уровня специфических антител (IgM) в сыворотке крови.

## Выводы

1. Применение экстракта шлемника байкальского в условиях развивающейся цитостатической гемодепрессии, вызванной однократным введением мышам линии СВА/СаЛас циклофосфана в максимально переносимой дозе, оказывает выраженное стимулирующее влияние на процессы восстановления в большей степени эритроидного и лимфоидного ростков кроветворения, а использование пантовита – на репарацию миелоидного и лимфоидного ростков.

2. Курсовое применение экстракта шлемника байкальского нивелирует иммуносупрессивное действие циклофосфана путем стимуляции фагоцитарной активности макрофагов и восстановления количества клеток-антителопродуцентов. Введение пантовита иммунизированным мышам на фоне цитостатической иммуносупрессии вызывает повышение фагоцитарной активности макрофагов и усиление синтетической активности антителообразующих клеток.

## Список литературы

1. **Абрамова Е.В.** Влияние экстракта шлемника байкальского на процессы регенерации кроветворения в условиях химиотерапии: автореф. дис. ...канд. мед. наук. Томск, 1992. 21 с.
2. **Агафонов В.И.** Роль гемопоэз-индуцирующего микроокружения в регуляции кроветворения при действии на организм миелоингибирующих факторов. Принципы фармакологической коррекции: автореф. дис. ...докт. мед. наук. Томск, 1994. 44 с.
3. **Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В.** Тез. Роль гемопоэз-индуцирующего микроокружения в регуляции кроветворения при цитостатических миелосупрессиях. Томск: СТТ, 1999. 128 с.

4. **Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В., Перишина О.В., Скурихин Е.Г.** Фармакологическая регуляция системы крови при экспериментальных невротических воздействиях. Томск: Изд-во Том. Ун-та, 2007. 156 с.: ил.
5. **Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А.** Роль вегетативной нервной системы в регуляции гемопоэза. Томск, 1997. 217 с.
6. **Гольдберг Е. Д., Дыгай А. М., Шахов В. П.** Методы культуры ткани в гематологии. Томск, 1992. 272 с.
7. **Гольдберг Е.Д., Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, Е.Н. Амосова, С.Г. Крылова, В.Е. Гольдберг** Растения в комплексной терапии опухолей. М.: Изд. РАМН, 2008. 232 с.

8. **Гордон Д. С., Сергеева В. Е., Зеленова И. Г.** Нейромедиаторы лимфоидных органов. Л.: Наука, 1982. 128 с.
9. **Иванова С. А.** Психоэмоциональный стресс и иммунитет//Сибирский вестник психиатрии и наркологии, 2000. №1. С. 31–37.
10. **Козлов В. А., Журавкин И. Н., Цырлова И. Г.** Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ. Новосибирск: Наука, 1982. 221 с.
11. **Козлов В. А., Цырлова И. Г., Чеглякова В. В.** Иммунорегуляторные клетки нелимфоидной природы – эритроциты-супрессоры//Доклады АН СССР, 1984. Т. 13. С. 195–216.
12. **Крыжановский Г. Н., Магаева С. В., Макаров С. В.** Нейроиммунопатология. М., 1997. 282 с.
13. **Лазарева Д. Н., Алехин Е. К.** Стимуляция иммунитета. М., Медицина, 1985. 256 с.
14. **Линг Н. Р., Кэтти Д.** Гемагглютинация и реакции антителозависимого гемолиза. Антитела. Методы / Под ред. Кэтти Д. кн.1. М.: Мир, 1991. С. 238–243,
15. **Машковский М. Д.** Лекарственные средства. 15-е изд., перераб., испр. и доп. М.: «Новая Волна», 2006. 1206 с.
16. **Минакова М.Ю.** Моноаминергические механизмы регуляции кроветворения при цитостатических воздействиях. Автореф. дисс. ...д. м. н. Томск, 2009. 50с.
17. **Олейник А. В.** Влияние циклофосфана на перекисное окисление липидов. Вопросы онкологии, 1985. Т.31, №7. С. 97–101.
18. **Першина О.В., Суслов Н.И., Провалова Н.В., Скурихин Е.Г.** Влияние препаратов природного происхождения на систему крови и когнитивные функции при гипоксическом воздействии//Бюлл. эксперим. биол. 2002. (прил. №1). С. 27–30.
19. **Рыжаков В. М.** Структурная организация систем жизнеобеспечения при злокачественном росте и в условиях противоопухолевой химиотерапии. Принципы фармакологической коррекции нарушений гомеостаза. Автореф. дисс. ...д. м. н. Томск, 1998. 42 с.
20. **Сайфутдинов Р. Р.** Влияние шлемника байкальского на энергетический метаболизм головного мозга крыс при гипоксии. Автореф. дисс. ...к. м. н. Томск, 1997. 21 с.
21. **Удут Е.В.** Коррекция анемического синдрома при миелоингибирующих воздействиях. Автореф. дисс. ...д. м. н. Томск, 2008. 44с.
22. **Cunningham A. J.** A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells//Nature. 1965. Vol.207, № 5001, P. 1106–1107.
23. **Novotny D. E. K.** Direct innervation of lymphatic organ in the rat//1st Intern. Congr. of ISNIM (4th Intern Workshop on Neuroimmunomodulation). Florence, Italy, May 23–26. 1990. P. 293.
24. **Vrav B., Hoebeke J., Saint-Guillain M. et al.** A new quantitative fluorimetric assay for phagocytosis of bacteria//Scand. J. Immunol. 1980. Vol.11, №2. P. 147–153.

## Preclinical investigation of plants drugs in the conditions of cytostatic influence

O. S. Borsuk, N. V. Masnaya, A. A. Churin, E. Yu. Sherstoboev

The extract of *Scutellaria baicalensis* use in the conditions of developing cytostatic hemodepression, induced by a single administration of cyclophosphamide in a maximum tolerant doses in CBA/CaLac mice, stimulates the regenerating processes in a greater degree of erythroid and lymphoid lineages of hemopoiesis, but pantovit use – the reparation of myeloid and lymphoid lineages. Course application of *Scutellaria baicalensis* grades immunosuppressive effect of cyclophosphamide by stimulation of phagocyte activity of macrophages and regeneration of antibody-producing cells contents. Pantovit administration in immunized mice on the background of cytostatic immunosuppression gives rise to increasing phagocyte activity of macrophages and intensification of synthetic activity of antibody-producing cells.

**Key words:** mice CBA/CaLac, cyclophosphamide, plant drugs, hematopoietic and immune systems.



## Полиморфизм гена *MDR1*, кодирующий гликопротеин-Р и развитие серьезных нежелательных побочных реакций при применении блокаторов медленных кальциевых каналов

А. И. Ташенова, В. Г. Кукес

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская обл.

Контактная информация: e-mail: elmed@yandex.ru

Блокаторы медленных кальциевых каналов являются субстратами генетически полиморфного транспортера гликопротеина-Р. В исследовании изучалась ассоциация носительства генотипов по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1*, кодирующего гликопротеин-Р и развитие серьезных неблагоприятных побочных реакций при применении блокаторов медленных кальциевых каналов. Статистически значимых различий в частотах носительства генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* у больных с серьезными неблагоприятными побочными реакциями при применении блокаторов медленных кальциевых каналов ( $n=17$ ), по сравнению с группой контроля ( $n=53$ ): 30% vs 25%,  $\chi^2=0,007$ ,  $p=0,935$ .

**Ключевые слова:** гликопротеин-Р, фармакогенетика, блокаторы медленных кальциевых каналов, неблагоприятные побочные реакции.

Гликопротеин-Р является одним из «центральных участников» системы детоксикации ксенобиотиков, активность которой определяет фармакокинетику большинства лекарственных средств (ЛС) [1]. В настоящее время также хорошо известно, что ген *MDR1*, кодирующий гликопротеин-Р, генетически полиморфен, что определяет межиндивидуальную вариабельность фармакокинетики [1, 6], а значит, и профиля безопасности, ЛС-субстратов гликопротеина-Р, в том числе и блокаторов медленных кальциевых каналов (БМКК) [4, 7].

БМКК – современная группа лекарственных средств, обладающих антигипертензивной и антиангинальной активностью, а не дигидропиридиновые

БМКК (верапамил и дилтиазем) еще и антиаритмической активностью. Применение нифедипина – первого препарата из этой группы – имеет более чем тридцатилетнюю историю, включающую как многообещающие «взлеты», так и разочаровывающие «падения». Войдя в практику как эффективное антиангинальное средство, нифедипин вскоре начал широко применяться в качестве гипотензивного препарата, а также в качестве вазодилатора у больных с хронической сердечной недостаточностью. По мере накопления опыта стало известно, что длительное применение высоких доз короткодействующего нифедипина может приводить к увеличению смертности больных с различными



сердечно-сосудистыми заболеваниями, в то же время для недигидропиридиновых БМКК таких эффектов доказать не удалось. Этот факт привел к резкому падению «популярности» нифедипина и других БМКК в глазах практикующих врачей. Однако начиная с середины 90-х годов прошлого столетия стали появляться результаты рандомизированных, в том числе мультицентровых исследований, подтверждающих высокую эффективность и безопасность пролонгированных форм нифедипина, а также «новых» дигидропиридиновых БМКК, а также препаратов верапамила и дилтиазема при лечении артериальной гипертензии и стабильной стенокардии. Однако несмотря на доказанное положительное влияние на прогноз и качество жизни пациентов с данными заболеваниями, БМКК могут вызывать различные неблагоприятные побочные реакции (НПР), в некоторых случаях серьезные. Есть данные, что большинство НПР БМКК связано с увеличением их концентрации в плазме крови, что в свою очередь зависит от индивидуальной активности ферментов биотрансформации.

Исходя из имеющихся данных об участии гликопротеина-Р в процессах всасывания, распределения и выведения БМКК, можно предположить наличие ассоциации между полиморфизмом гена *MDR1*, кодирующего гликопротеин-Р, и развитием серьезных НПР БМКК [4, 5]. Известно, что у лиц с генотипом ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* отмечается снижение активности гликопротеина-Р или снижение его количества в организме, что должно приводить к изменению фармакокинетики ЛС-субстратов БМКК, это может относиться и к БМКК [2, 5].

## Материалы и методы

Изучение ассоциации между носительством генотипов по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* и развитием серьезных НПР при применении БМКК осуществляли путем проведения ретроспективного исследования по типу случай – контроль.

На основе архивного материала многопрофильного стационара с января 1999 по май 2009 г. было отобрано 22 истории болезни пациентов, в которых указывалось на применение БМКК и развитие серьезных НПР, связанных предположительно с приемом данной группы ЛС. Из 22 пациентов, для уточнения анамнеза на предмет установки возможной причинно-следственной связи между развитием серьезных НПР и применением БМКК, был осуществлен телефонный или личный контакт с 20 пациентами. С остальными 2 пациентами контакт не был осуществлен не по медицинским причинам (отказ от общения с врачом). Нам удалось выявить 20 пациентов с серьезными НПР, предположительно связанными с применением БМКК. С помощью шкалы Наранжо, используя данные историй болезни и анамнеза, собранного непосредственно у пациентов во время контактов, у этих 20 пациентов мы оценивали причинно-следственную связь между развитием серьезных НПР и применением БМКК. Из 20 пациентов сумму баллов от 5 до 9 по шкале Наранжо получили 17 пациентов, что соответствует определенной и вероятной связи между развитием серьезных НПР и применением БМКК. При этом у этих 17 пациентов были зарегистрированы следующие серьезные НПР при применении БМКК: выраженная брадикардия (менее 40 ударов в минуту) – у 6 пациентов



(5 – на верапамиле, 1 – на дилтиаземе), коллапс – у 7 пациентов (4 – на короткодействующем нифедипине, 2 – на пролонгированном нифедипине, 1 – на амлодипине), атриовентрикулярная блокада II или III степени – у 3 пациентов (у всех на прием верапамила), пароксизм мерцательной аритмии – у 1 пациента (при приеме короткодействующего нифедипина). 3 пациента получили менее 5 баллов по шкале Наранжо, поэтому эти случаи при дальнейшем анализе не использовались. Таким образом, для выявления ассоциации между развитием серьезных НПР при применении БМКК и полиморфизмом гена *MDR1* были отобраны 17 пациентов. При оценке по шкале Наранжо, у всех 17 пациентов связь между развитием серьезных НПР и применением БМКК определена как «вероятная». При этом средний балл по шкале Наранжо составил  $5,7 \pm 0,5$  балла. Все 17 пациентов согласились прийти в больницу для сдачи крови на генетическое исследование. У всех 19 пациентов было взято специально разработанное информированное согласие о взятии крови на генетическое обследование, после чего в условиях процедурного кабинета был осуществлен забор крови. Из 17 пациентов, включенных в анализ, были 7 мужчин (41%) и 10 женщин (59%), их средний возраст составил  $54,6 \pm 19,5$  лет.

Длительность применения БМКК у этих пациентов составила от 2 дней до 2 недель. Из 17 пациентов 5 применяли короткодействующий нифедипин (29%), 2 – пролонгированный нифедипин (8%), 1 – амлодипин (5%), 9 – верапамил (53%), 1 – дилтиазем (5%). Пациенты применяли данные препараты по показанию: ИБС (стенокардия напряжения) – 2 пациента, эссенциальная артериальная гипертензия – 6 пациентов или при сочетании этих двух показаний – 9 пациентов.

В качестве контрольной группы в исследование были включены 53 пациента, которым проводилось лечение БМКК, по аналогичным показаниям и не наблюдалось серьезных НПР. В контрольной группе было 24 мужчины (45%) и 29 женщин (55%), их средний возраст составил  $58,9 \pm 8,4$  лет. Длительность применения БМКК у этих пациентов составила от 1 месяца до 1 года. 15 пациентов применяли короткодействующий нифедипин (28%), 10 – пролонгированный нифедипин (19%), 18 – верапамил (34%), 10 – амлодипин (19%). Группа больных с серьезными НПР при применении БМКК и группа контроля статистически значимо не различались по демографическим и клиническим характеристикам (табл. 1).

Генотипирование пациентов (выявление аллелей и генотипов по полиморфно-

Таблица 1

**Характеристика больных с серьезными НПР при применении БМКК (основной группы) и из группа контроля**

Характеристика	Основная группа (n=17)	Группа контроля (n=53)	P
Возраст, лет	$54,6 \pm 19,5$	$58,9 \pm 8,4$	НД
Пол: мужской (%) / женский (%)	7 (41%) / 10 (59%)	24 (45%) / 29 (55%)	НД
Примечание: НД – нет достоверных различий			

му маркеру С3435Т гена *MDR1*) проводили методом полимеразной цепной реакции – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов после предварительного выделения ДНК из лейкоцитов периферической крови стандартным фенольным методом.

Статистические различия оценивались с помощью критерия  $\chi^2$ .

### Результаты и обсуждение

При проведении генотипирования по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* у 17 больных с серьезными НПП при применении БМКК было выявлено носительство следующих генотипов:

СС – 6 человек (35%);

СТ – 6 человек (35%);

ТТ – 5 человек (30%),

Таким образом, из этих 17 человек, больные, не являющиеся носителями генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* (генотипы СС и СТ), составили 70%. И 5 человек оказались носителями генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1*, что составило 30%.

При проведении генотипирования по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* 53 больных из группы контроля было выявлено носительство следующих генотипов:

СС – 18 человек (33%);

СТ – 22 человека (42%);

ТТ – 13 человек (25%).

Таким образом, из этих 53 пациентов больные, не являющиеся носителями генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* (генотипы СС и СТ), составили 75%. И 13 человек оказались носителями генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1*, что составило 25%.

При изучении ассоциации между носительством генотипа ТТ по полиморф-

ному маркеру С3435Т и развитием серьезных НПП при применении БМКК мы сравнили частоты носительства данного генотипа у больных с серьезными НПП при применении БМКК и в группе контроля, используя критерий  $\chi^2$ , для чего нами была построена таблица сопряженности (табл. 2).

Оказалось, что статистически значимых различий в частотах носительства генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* у больных с серьезными НПП при применении БМКК, по сравнению с группой контроля (больные, принимающие БМКК, терапия которым не осложнялась развитием серьезных НПП) не выявлено: 30% vs 25%,  $\chi^2=0,007$ ,  $p=0,935$ . А это значит, что нами не обнаружена ассоциация между носительством генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* и развитием серьезных НПП при применении БМКК, поэтому отношение шансов, чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного результата и прогностическая ценность отрицательного результата не проводилась.

В настоящее время выполнено исследование, в котором обнаружено, что у носителей генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* отмечаются более высокие значения макси-

Таблица 2

**Носительство генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* у больных с серьезными НПП при применении БМКК (НПП+) и в группе контроля (НПП-)**

Показатель	НПП+ (n=17)	НПП- (n=53)
Несущие генотип ТТ (n=18)	5	13
Несущие генотип Т и СС (n=42)	12	40

мальной концентрации амлодипина в плазме крови по сравнению с лицами с генотипами СТ и СТ [3]. И подобные изменения фармакокинетики у лиц с генотипом ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* могли бы иметь клинические последствия в виде развития НПП при применении БМКК, включая серьезные [3, 5]. Однако результаты нашего исследования не подтвердили это предположение: ассоциация между но-

сительством генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена *MDR1* и развитием серьезных НПП при применении БМКК нами не было найдено. Это может объясняться тем, что группа пациентов с серьезными НПП была невелика, а с другой, что в фармакокинетики БМКК принимают участие изоферменты цитохрома Р450, и прежде всего из подсемейства СYP3А [1, 6].

### Список литературы

1. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины. М.- ГЭОТАР-Медиа, 2008. 304 с.

2. Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатъев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика./Под редакцией Кукеса В.Г., Бочкова Н.П. М.: Гэотар-Медиа, 2007. 248 с.

3. Kim K.A., Park P.W., Park J.Y. Effect of ABCB1 (MDR1) haplotypes derived from G2677T/C3435T on the pharmacokinetics of amlodipine in healthy subjects//Br. J. Clin. Pharmacol. 2007, Jan. Vol.63, №1. P. 53–58.

4. Kuzuya T., Kobayashi T., Moriyama N., Nagasaka T., Yokoyama I., Uchida K., Nakao

A., Nabeshima T. Amlodipine, but not MDR1 polymorphisms, alters the pharmacokinetics of cyclosporine A in Japanese kidney transplant recipients//Transplantation. 2003. Vol.76, №5. P. 865–868.

5. Li Y.H., Wang Y.H., Li Y., Yang L. MDR1 gene polymorphisms and clinical relevance//Yi Chuan Xue Bao. 2006, Feb. Vol.33, №2. P. 93–104.

6. Zhou S.F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition//Xenobiotica. 2008, Jul. Vol.38, №7–8. P. 802–832.

7. Zhou S.F., Di Y.M., Chan E., Du Y.M., Chow V.D., Xue C.C., Lai X., Wang J.C., Li C.G., Tian M., Duan W. Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine//Curr. Drug. Metab. 2008, Oct. Vol.9, №8. P. 738–784.

## The polymorphism of gene MDR1 coding glycoprotein -P and development of serious adverse drug reactions at application of slow calcium channels blockers

A. I. Tashenova, V. G. Kukes

The slow calcium channels blockers are substrats of genetically polymorphic transporter glycoproteina-P. We was studied association caring genotypes on marker C3435T of gene MDR1 and development serious adverse drug reactions at application of calcium channels blockers. Statistically significant distinctions in frequencies caring a TT genotype on polymorphic marker C3435T of gene MDR1 at patients with serious adverse drug reactions at application of calcium channels blockers (n=17), in comparison with control group (n=53): 30 % vs 25 %,  $\chi^2=0,007$ ,  $p=0,935$ .

**Key words:** glycoprotein-P, pharmacogenetics, calcium channels blockers, adverse drug reactions.



## Предоперационная оценка параметров внешнего дыхания и показатели гемодинамики у телят для имплантации систем вспомогательного кровообращения

Э. К. Гасанов<sup>1</sup>, Е. В. Сагалова<sup>1</sup>, А. В. Муха<sup>2</sup>, С. Б. Трухманов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова Минздравсоцразвития, Москва

<sup>2</sup>Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская обл.

Контактная информация: Гасанов Эюб Кяримович (499)1907705

Сагалова Елена Владимировна (499)1907705, моб. 8(909)6389156

e-mail: lubotudrova\_elen@mail.ru

В настоящей работе нами были проанализированы 27 успешных случаев имплантации различных систем вспомогательного кровообращения в период с 2001 по 2009 год. Была проведена оценка функционального состояния телят в дооперационный период, которая включала в себя исследование показаний внешнего дыхания, кислотно-щелочного баланса и газов крови, а также ряд гемодинамических показателей. На основании проведенных исследований были выработаны рекомендации по подготовке животных к эксперименту, что позволит в дальнейшем уменьшить число послеоперационных осложнений.

**Ключевые слова:** гемодинамика, вспомогательное кровообращение, потребление кислорода.

Специфика работы устройств вспомогательного кровообращения (ВК) и искусственного сердца (ИС) требует выбора биологической модели, более близкой к человеку. В этом плане вполне подходящим объектом являются телята, поскольку их анатомические и биологические особенности позволяют легко переносить результаты экспериментальных исследований в клиническую практику [3].

Спокойное поведение телят в клетке, в отличие от собак, позволяет в течение длительного времени наблюдать за ними и проводить необходимые исследования.

Отбор телят для проведения экспериментов по имплантации систем ВК проводили в животноводческих хозяйствах, благополучных по инфекционным заболеваниям. Отбирали клинически здоровых телят, с крепкой конституцией и хорошей упитанностью. Важным критерием при отборе телят являлись живая масса (ЖМ) и обхват грудной клетки (ОГК). Оптимальными параметрами считаются: возраст 2,5–3 месяца, ОГК = 98–106 см и ЖМ = 75–95 кг. Доставку телят в виварий НИИТ и ИО производили автотранспортом, с предварительной антистрессовой терапией (0,3 мг рампуна

и 0,3 мг атропина сульфата). В виварии животные содержались в индивидуальных клетках (4 м<sup>2</sup>) с отдельными кормушками и поилками до операции имплантации систем ВК. Адаптация телят в условиях вивария в среднем составляла 7–14 суток, этого периода достаточно для привыкания к новому рациону питания, новой обстановке, проведения различных обследований.

### Материалы и методы

В настоящей работе обобщены исследования по оптимизации содержания 27 телят (бычков) черно-пестрой породы. Перед началом имплантации систем ВК в течение 3–5 дней телят приучали к послеоперационной жизни: телята находились в послеоперационной клетке, в течение 1–1,5 часов в день ходили по тредбану и привыкали к новой окружающей среде. У телят ежедневно производили исследования параметров внешнего дыхания (частота дыхания, дыхательный объем, потребление кислорода, минутный объем дыхания), регистрировали ЭКГ, измеряли артериальное давление, определяли минутный объем крови, ударный объем. Кроме того, из яремной вены и сонной артерии брали кровь для анализа кислотно-щелочного баланса и газов крови.

Исследование параметров внешнего дыхания проводили на спирографе СГ-1М (рис. 1, 2), который предназначен для общей и раздельной спирографии – регистрации дыхательных объемов легких. Оценку спирограммы и расчет основного объема производили следующими способами:

- частоту дыхания (ЧД) определяли, подсчитывая число вдохов и выдохов в минуту;

- дыхательный объем (ДО) определяли, измеряя амплитуду записи в милли-

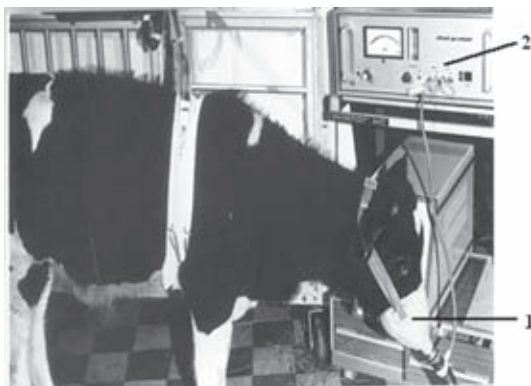


Рис. 1. Теленок во время тренировки дыхания и измерения параметров внешнего дыхания. 1 – маска, 2 – спирограф.

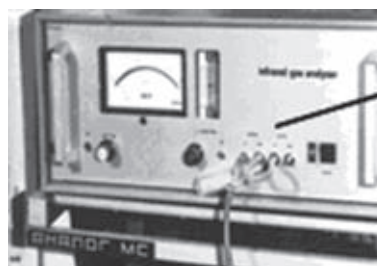


Рис. 2. Спирограф.

метрах и умножая полученные данные на 20 (в данном приборе 1 см перемещения колокола спирометра соответствует 200 мл);

- потребление кислорода ( $PO_2$ ) определяли по наклону спирограммы, измеряя высоту наклона в миллиметрах, деля эту величину на количество минут, соответствующих продолжительности записи дыхания (между принятыми для замера точками) и умножая на 20 мл;

- количество воздуха, вдыхаемого в минуту, или минутный объем дыхания, равен дыхательному объему, умноженному на число дыханий в 1 минуту.

За рассматриваемый период времени (2001–2009 гг.) успехи имплантации разных систем вспомогательного кровообращения, проводимых лабораторией вспомогательного кровообращения

и искусственного сердца и лабораторией подготовки и проведения экспериментальных исследований ФГУ НИИТ и ИО Росмедтехнологий, позволили добиться длительного выживания экспериментальных животных. В то же время, несмотря на отработанность методики имплантации систем ВК, встречается еще ряд трудностей. К ним относятся развитие артериальной гипоксемии, связанной с особенностями строения легких у телят. Профилактика легочных осложнений до, во время и после операций при имплантации систем ВК остается одной из проблем. Пусковым механизмом нарушений газообмена во время операции является комплекс патофизиологических процессов, возникающих в результате искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и имплантации систем ВК (ателектазы, накопление внесосудистой жидкости в легких, увеличение внутри-

Таблица 1

### Некоторые показатели внешнего дыхания у телят (n = 27)

Показатель	M ± m
Частота дыхания, ЧД/мин.	27,2 ± 6,1
Дыхательный объем, ДО, мл/мин.	870,3 ± 48,9
Минутный объем дыхания, МОД, л/мин.	23,7 ± 2,1
Потребление кислорода, мл/мин.	540,9 ± 2,59

легочного шунтирования крови, пневмония) [1, 2].

### Результаты и обсуждение

Учитывая вышесказанное, нами проведена оценка функционального состояния организма телят в дооперационный период. Для этого в первую очередь исследовали показатели внешнего дыхания, которые представлены в табл. 1.

Таблица 2

### Некоторые показатели кислотно-щелочного баланса и газы крови у телят (n = 27)

Показатель	Биологическая среда	M ± m
PH	Артерия	7,4 ± 0,03
	Вена	7,34 ± 0,05
Hb, г%		11,3±1,7
HbO <sub>2</sub> , мм рт.ст.	Артерия	95,0±3,1
	Вена	71,3±2,3
Het, %		27,9±1,9
BB буферное основание, мэкв/л	Артерия	37,5 ± 2,0
	Вена	36,3 ± 1,5
SB стандартные бикарбонаты, мэкв/л	Артерия	18,7 ± 1,2
	Вена	16,3 ± 1,5
BE сдвиг буферных оснований, мэкв/л	Артерия	-5,3 ± 1,7
	Вена	-7,5 ± 2,1
Pco <sub>2</sub> , мм рт.ст.	Артерия	40,2 ± 3,5
	Вена	46,5 ± 2,3
Po <sub>2</sub> , мм рт.ст.	Артерия	90,1 ± 6,3
	Вена	40,3 ± 4,2



Наряду с показателями внешнего дыхания определялись кислотно-щелочной баланс и газы крови. Эти данные представлены в табл. 2.

Таблица 3

**Некоторые гемодинамические показатели у телят (n = 27)**

Показатель	M ± m
ЧСС, мин.	103,5 ± 3,2
Ра.сис., мм рт.ст.	132,4 ± 4,5
Ра.диаст., мм рт.ст.	84,3 ± 2,7
МОК, л/мин	6,7 ± 1,6
УО, мл/мин	64,7 ± 11,1
СИ, л/(мин·м <sup>2</sup> )	3,6 ± 0,4

При подготовке телят к экспериментам определялись гемодинамические показатели, которые представлены в табл. 3.

Проведение подобной тактики подготовки позволило уменьшить число предоперационных осложнений.

**Выводы**

Все сказанное делает необходимым еще раз вернуться к актуальности про-

блемы отбора и подготовки телят к экспериментам по имплантации систем ВК.

По нашим оценкам, оптимальное содержание телят до проведения экспериментов составляет 7 – 14 суток. За 48 часов до проведения эксперимента у телят из рациона исключаются сено, за 24 часа – комбикорм и корнеплоды, за 20 часов – вода. Для предотвращения броодильных процессов в рубце (преджелудке) телят, которые приводят к тимпани (вздутию рубца), за 20 часов до эксперимента животные получали 2 грамма тинидазола, подавляющего микрофлору: простейшие (инфузории) и бактерии. За 2 часа до эксперимента давали 1 грамм тинидазола и 200-300 мл 3% раствора калия.

Таким образом, оценка функционального состояния организма телят в дооперационный период в динамике позволяет выработать физиологически обоснованную подготовку животных для эксперимента по имплантации систем вспомогательного кровообращения, а также проводить анестезию у них на должном уровне.

**Список литературы**

1. Деметьева И.И., Черная М.А., Морозов Ю.А. Факторы риска развития дыхательной недостаточности после операций на сердце в условиях искусственного кровообращения//Вестник интенсивной терапии, 2004. № 3. С. 41–43.

2. Кассиль В.Л., Выжигина М.А., Лескин Г.С. Искусственная и вспомогательная вентиляция легких. М.: Медицина, 2004. С. 480.

3. Шумаков В.И., Зимин Н.К., Иткин Г.П. Искусственное сердце. М.: Наука, 1988. С. 201.

**Preoperative estimation of external breath parameters and hemodynamics parameters at calve for implantation of assistant blood circulation systems**

**E. K. Gasanov, E.V. Sagalova, A.V. Mukha, S. B. Trukhmanov**

In the present work we had been analyzed 27 successful cases of implantation of various systems of assistant blood circulation during with 2001 for 2009. The estimation of a functional condition calve in preoperative the period which included research of indications of external breath, acid alkaline balance and gases of blood, and also a number hemodynamics parameters has been lead. On the basis of the lead researches recommendations on preparation of animals for experiment that will allow to reduce in the further number of postoperative complications have been developed.

**Key words:** Hemodynamics, assistant blood circulation, consumption of oxygen.

## **ВНИМАНИЮ АВТОРОВ**

Журнал «Биомедицина» публикует статьи обзорного, экспериментального и учебно-методического плана, не публиковавшиеся ранее в других изданиях. В приоритетном порядке печатаются статьи, посвящённые биологическому, математическому и комплексному моделированию. Принимаются рукописи, касающиеся доклинических и клинических испытаний лекарственных препаратов; выполненных на классических и альтернативных биологических объектах. Особое внимание уделяется вопросам генетической, микробиологической, экологической стандартизации лабораторных животных в соответствии с рекомендациями GLP и российскими нормативами. Публикуются работы по внедрению в лабораторную практику новых видов, представляющих ценность для биомедицинских исследований в качестве тест-систем, биологических объектов, моделирующих патологические состояния человека, продуцентов вакцин и сывороток клеточных культур, органов и тканей для ксенотрансплантации. Рассматриваются проблемы обеспечения репрезентативности, воспроизводимости и экстраполяции на человека данных, полученных в биомедицинских экспериментах на животных. Значительное место отводится статьям по разработке и внедрению новых биомедицинских технологий.

### **Рубрикация журнала**

#### **1.Обзоры**

#### **2.Оригинальные статьи**

#### **3.Краткие сообщения**

#### **4.Практикум**

#### **5.Нормативные документы**

В рубрике «Обзоры» публикуются обзоры научной литературы, по темам, соответствующим профилю журнала, методологические статьи (максимальный объём рукописи — до 12 стр., максимальное количество ссылок — до 35).

В рубрике «Оригинальные статьи» печатаются труды, отражающие результаты завершённых исследований (до 10 стр., до 25 ссылок).

В «Кратких сообщениях» приводятся завершённые фрагменты работ, представляющие самостоятельный интерес (до 4 стр., до 15 ссылок).

«Практикум» – учебно-методический раздел, где помещаются описания используемых в биомедицине методик, новых технологий (до 6 стр., до 10 ссылок).

В разделе «Нормативные документы» печатаются правила обращения с лабораторными животными, отечественные и международные законодательные акты, регламентирующие использование биомоделей в экспериментах (до 3 стр.).

### **Общие требования к оформлению**

Статью следует представлять в двух экземплярах с электронной версией текста, набраным в программе Microsoft Word шрифтом Times New Roman, кегль 12 на одной стороне листа с интервалом 1 между строками и полями 2,5 см со всех сторон. Латинские названия видов должны быть выделены курсивом.

На первой странице следует указать: 1) предполагаемую рубрику журнала, 2) название статьи, 3) инициалы и фамилии авторов, 4) учреждения, в которых была проведена работа, город или населённый пункт. На той же странице печатается реферат (не более 250 слов) и ключевые слова (не более 6 слов). В конце статьи приводится список цитированной литературы (см. «Литература») и ставятся собственноручные подписи всех авторов рукописи. Нумерация страниц – сверху по центру (на первой странице её номер не проставляется).

На отдельных листах печатаются таблицы, иллюстративный материал, подписи к рисункам, а также — реферат и ключевые слова на английском языке. К рукописи прилагают сопроводительное письмо от учреждения, направившего работу и на отдельном листе – фамилию,

имя, отчество автора, осуществляющего связь с редакцией, его почтовый адрес, телефон, адрес электронной почты.

Статьи, написанные по результатам экспериментальных исследований, должны (если это возможно) строиться по схеме: «Введение», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Литература». Для работ, предназначенных для рубрики «Краткие сообщения» раздел «Обсуждение результатов» необязателен, а количество литературных ссылок должно быть минимальным. Форма изложения обзорных и теоретических статей – свободная.

Статьи, описывающие исследования, выполненные на экспериментальных животных или альтернативных биологических объектах, в разделе «Материалы и методы» должны содержать следующую информацию: организм, орган, ткань, клеточная культура, микробная культура, субклеточный, молекулярный уровень экспериментальных объектов. В тех работах, где были использованы лабораторные животные, следует указать: 1 – биологический вид; 2 – пол; 3 – возраст или массу животного; 4 – генетический статус: инбредные линии, популяции нелинейных животных гибриды, генетически модифицированные организмы (трансгенные, нокаутные); 5 – источник, откуда получены животные; 6 – микробиологический статус: гнотобиоты; SPF; конвенциональные; 7 – условия содержания: виварий, изолятор, барьерная система, тип клеток, плотность посадки животных, корм.

### **Статистическая обработка результатов и таблицы**

Таблицы должны содержать только обобщённые и статистически обработанные материалы исследования. Следует указать метод обработки результатов и необходимые для расчётов исходные данные. Информация, представленная в таблицах, не должна повторяться в тексте статьи. Таблицы должны быть пронумерованы и озаглавлены. Они печатаются на отдельных листах, а в тексте в круглых скобках дается ссылка на них, например: (см. табл. 1).

### **Иллюстративный материал**

Рисунки не должны дублировать материалы таблиц. Все обозначения на них необходимо сопровождать пояснениями в подписи к рисунку. Иллюстрации следует пронумеровать в порядке их упоминания в тексте. На обороте каждого рисунка или фотографии должны быть указаны (карандашом) фамилии авторов, название статьи, номер рисунка, «верх». Подписи к рисункам даются общим списком на отдельной странице. Для микрофотографий полагается указать способ фиксации образцов и увеличение. На полях рукописи следует проставить (карандашом) номера таблиц и рисунков напротив тех мест в тексте, где желательно их поместить. Требования к иллюстрациям на дискетах или компакт-дисках: а) чёрно-белая графика – разрешение: не менее 600 точек на дюйм, формат: EPS или TIFF, б) полутоновые и цветные изображения – разрешение не менее 300 точек на дюйм, формат EPS или TIFF, в) диаграммы и графики (векторные изображения) представляются в собственном формате программы Adobe Illustrator, FreeHand или CorelDraw или в формате EPS с приложением исходных (табличных) данных, по которым построены графики/диаграммы.

### **Сокращения**

Помимо общепринятых, допускается использование не более 3 сокращений терминов, с обязательным указанием полного названия (в скобках) при первом упоминании в тексте.

### **Литература**

Цитируемая в статье литература приводится общим списком в конце статьи в порядке цитирования. Ссылки на цитируемую литературу в тексте статьи отмечаются порядковым номером работы в списке литературы, заключённым в квадратные скобки. Фамилии иностранных авторов указываются (если это необходимо) в тексте на русском языке, при первом упоминании приводится их написание на языке оригинала в круглых скобках.

### В списки литературы приводятся

Для книг: фамилии и инициалы всех авторов, название, место издания, название издательства, год издания, цитируемые страницы, либо общее количество страниц в книге (если текст статьи содержит несколько ссылок на данную книгу).

Пример:

1. *Даренская Н. Г., Ушаков И. Б., Иванов И. В.* Экстраполяция экспериментальных данных на человека в физиологии и радиологии. М.—Воронеж: ИСТОКИ, 2004. 232 с., для главы (статьи) в книге: фамилии и инициалы авторов главы, название главы, название книги, фамилии и инициалы редакторов, место издания, название издательства, год издания, первая и последняя страницы главы.

Пример:

2. *Авербах М. М., Мороз А. М.* Естественная резистентность к туберкулезу и некоторые вопросы иммуногенетики. // В кн.: Иммунология и иммунопатология туберкулеза. М.: Медицина, 1976. С. 106—116,

для статьи в журнале: фамилии и инициалы авторов, название статьи, наименование журнала, год, том (выпуск), номер, первая и последняя страницы статьи.

Пример:

3. Каркищенко Н. Н. Концептуальное пространство и топологические структуры биомедицины // Биомедицина. 2005. № 1. С. 5—17.

для сайта: ссылка на страницу в Интернете.

Пример:

<http://www.nih.gov/science/models/mouse/knockout/index.html>

### Корректурa

Рукописи, не отвечающие перечисленным правилам, не рассматриваются и не возвращаются. Редакция оставляет за собой право принимать решение о публикации рукописи, производить редакционные изменения и сокращения, стилистическую правку, а также перенести статью в другую рубрику или номер журнала. Все рукописи направляются на внешнее рецензирование. За публикацию статей плата не взимается и гонорар не выплачивается.

После опубликования статьи авторам высылается бесплатно 1 экземпляр журнала.

### Рукописи направлять по адресу:

143332 Московская обл., Красногорский р-н, п/о Отрадное, пос. Светлые Горы, НЦБМТ РАМН, редакция журнала «Биомедицина».

Электронный адрес НЦБМТ РАМН: [matveyenkoel@mail.ru](mailto:matveyenkoel@mail.ru)

Телефон редакции: 561-52-64.