

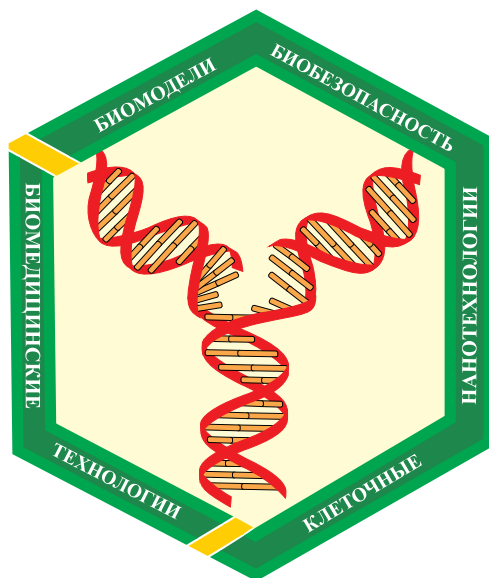
Научный журнал.

Основан в 2005 году Научным центром биомедицинских технологий РАМН

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати
Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324
09.06.2005г.

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. Капаназе (к.с.-х.н., зам. главного редактора),

В. Н. Каркищенко (д.м.н., проф.),

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

А. Н. Мурашев (д.б.н., проф.), 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.), Е. В. Ших (д.м.н., проф.)

Редакционный совет:

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

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

Содержание

РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ

В.В.Слободенюк, Н.Н.Каркищенко, С.С.Афанасьев, Б.А.Лапин, В.А.Алешкин, А.В.Караулов, Ю.В.Несвижский, С.Ю.Пчелинцев, Э.К.Джикидзе, М.С.Афанасьев, Е.А.Воропаева
Спонтанный хламидиоз у обезьян как модель хламидийной инфекции 6

Ю.В.Фокин, В.Н.Каркищенко
Вокализация крыс в ультразвуковом диапазоне как модель оценки стрессового влияния обездвиживания, электрокожного раздражения и физической нагрузки фармакодинамики лекарств 17

О.И.Степанова, Н.Н.Каркищенко, Н.А.Онищенко, О.В.Баранова
Альтернативные модели клеточной трансплантологии при сахарном диабете 2 типа в различные сроки заболевания 22

ГЕНЕТИКА

Х.Х.Семенов, Н.Н.Каркищенко, Т.В.Бескова, Е.Л.Матвеевко
Межвидовые различия в чувствительности клеток костного мозга у мышей и крыс к индукции мутаций тиофосфамидом 26

ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Н.В.Станкова, Г.Д.Капанадзе
Оптимизация светлогорских мини-свиней для биомедицинских исследований 33

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ

Ю.А.Степанов, Н.Н.Каркищенко, М.Ф.Черкасов, В.Н.Каркищенко, Г.Д.Капанадзе, В.В.Бояринцев, В.Б.Назаров
Изучение эффективности препарата «Гемостоп» в эксперименте на животных 50

ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ

Е.А.Галатова, А.Ю.Шестаков, Г.Д.Капанадзе
Особенности накопления и распределения экотоксикантов в донных отложениях и водорослях 58

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

В.В.Алтухов, Л.П.Ларионов, Т.Г.Хонина
Влияние «Силативита» на локомоторную активность и отдельные показатели крови у экспериментальных животных при термическом ожоге 63

А.В.Арлыт, М.С.Сулейманов, М.Н.Ивашев, В.В.Юшков, Г.В.Масликова
Влияние препарата «Профеталь» на мозговую кровоток 66

Т.М.Баторова Влияние Феррум Лека на систему глутатиона мышей.....	68
Д.А.Бондаренко Модель патологии кожи для доклинических испытаний препаратов.....	69
А.А.Волков, Л.П.Ларионов, Н.А.Забокрицкий, Т.Г.Хонина, И.Н.Тосова, Е.В.Федотова, А.А.Мишечкина, В.Е.Кочеткова, Е.В.Тарасова Разработка и доклиническое изучение инновационных композиций мягкой лекарственной формы на основе диметилдиглицероксисилана при термической травме.....	71
Т.А.Гуськова, Р.Д.Сюбаев, И.Н.Немкова, Г.Н.Енгальчева Изучение токсичности лекарственных средств in vitro при оценке их токсикологического взаимодействия.....	74
Е.Ю.Демченкова, В.П.Пахомов Определение антиоксидантной активности лекарственных средств, бадов и лекарственного растительного сырья.....	76
И.А.Дьяченко Общетоксическое действие пептидного антибиотика ареницина.....	79
Г.Н.Енгальчева, Р.Д. Сюбаев, О.Л.Верстакова Основные ошибки, выявляемые при экспертизе результатов доклинических исследований воспроизведенных лекарственных средств.....	82
И.Б.Жоголева, С.М.Головина, Р.Д.Сюбаев, О.Л.Верстакова Проблемы доклинического токсикологического изучения безопасности вакцин.....	84
Н.А.Забокрицкий, Л.П.Ларионов, А.Б.Бакуринских Новое средство интимной гигиены Фемивит в коррекции воспалительных заболеваний органов малого таза.....	85
Н.А.Забокрицкий, А.А.Бакуринских, Е.А.Бакуринских Доклиническая фармакологическая оценка токсичности, безопасности и эффективности нового зубного эликсира «Дентозар».....	87
Е.Е.Зацепина, Н.С.Ляхова Гепатопротекторный эффект мультикомбинированной лекарственной формы на основе лиофилизата облепихового масла с учетом индивидуальных особенностей работы ЖКТ.....	89
Е.Е.Зацепина, И.Л.Лулева Гепатопротекторное средство из артишока колючего.....	91
М.Н.Ивашев, Т.А.Скоробогатова, В.И.Панцуркин Моделирование строфантиновой аритмии на наркотизированных крысах.....	92
Я.Г.Корецкий Производные изотиомочевины – новые антигипотензивные препараты.....	94
А.Л.Корогаева, В.П.Левицкая, О.Л.Малиновская Доклиническая фармакологическая оценка мутагенных свойств субстанции коэнзима Q10.....	95

А.В.Корочинский, И.А.Савенко, А.В.Сергиенко, М.Н.Ивашев Определение раздражающего действия и острой токсичности иммобилизованных форм бактерий.....	97
В.С.Лалетин, Л.С.Колесниченко Влияние α -липовой кислоты на изменения системы глутатиона, вызванные химиотерапией.....	100
Л.П.Ларионов, Н.А.Забокрицкий, М.А.Бакуринских, А.Б.Бакуринских Коррекция дисбиотических нарушений при использовании средства интимной гигиены «Фемивит».....	102
Нгуен Чи Тхань К вопросу о создании лекарственного препарата на основе полисциаса кустарникового.....	104
Э.Т.Оганесян, И.П.Кодониди, Т.А.Лысенко, А.В.Ивченко, Д.С.Золотых, А.В.Бичеров Исследование противовоспалительной активности производных хиназолинона-4 и их ациклических форм.....	105
А.С.Осипов, П.В.Бобылев, А.А.Новак, Е.Б.Нечаева Применение метода ВЭЖХ для анализа соединений платины в лекарственных препаратах.....	107
В.Ф.Остров, М.Б.Евгеньев, А.Н.Мурашев Защитные свойства рекомбинантного человеческого белка теплового шока 70 при моделировании грамположительного сепсиса у крыс.....	110
Б.И.Парий, М.П.Тодираш, С.Б.Парий, Л.Г.Руснак, В.В.Валика, М.А.Тома-Кожокару, Л.М.Щуркану Гепатопротекторное воздействие препарата «Neamon-hera» при индуцированном токсическом гепатите.....	112
В.П.Пахомов, Е.Ю.Демченкова О фитопрепаратах.....	114
И.Н.Погоня Новые возможности получения эффективных лекарственных средств (энтомологические препараты).....	115
Т.Г.Покровская, Т.Н.Чулюкова, М.В.Покровский, Н.Г.Филиппенко Эндотелиопротективные дозозависимые эффекты силденафила в комбинациях с L-аргинином при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота.....	118
И.А.Савенко Энтеропротекторное действие когитума на моделированный спазм в эксперименте.....	120
И.А.Савенко, А.В.Крищенко, А.В.Сергиенко, М.Н.Ивашев Фармакологическое исследование влияния когитума на моделированную патологию желудка крыс.....	123
Эиса Задех Салар Фалахатий, Г.Д.Капанадзе Фармакокинетическое изучение анастрозола на животных.....	126
Л.Г.Сагаева Использование программно-целевого подхода для разработки модели лекарственного обеспечения социально значимых заболеваний в Республике Казахстан.....	127

Т.А.Скоробогатова

Изучение антиаритмического действия анилокаина и лидокаина при строфантиновой аритмии 129

Н.Е.Сурнакова

Закономерности изменений экспрессии рецептора CD95 – молекулы клеток системы иммунологического надзора (опосредующей апоптоз) у людей, постоянно проживающих в условиях большого мегаполиса 131

Р.Д.Сюбаев

Особенности доклинической оценки безопасности фиксированных комбинаций лекарственных средств 133

А.В.Тыртышникова, Е.В.Елисева, И.В.Дюйзен¹, Е.Ф.Романченко

NO-ергическая активность сосудодвигательного центра продолговатого мозга на фоне коррекции гипотензивными препаратами 136

А.Л.Ураков, Р.И.Таджиев, Б.Г.Юшков, В.Б.Дементьев, Л.П.Ларионов, Н.А.Забокрицкий, С.А.Кривопапов

Доклиническое фармакологическое изучение относительной плотности (удельного веса) гнойных экссудатов при эмпиеме плевры 138

А.Л.Ураков, Б.Г.Юшков, Н.А.Забокрицкий, Р.И.Таджиев, Л.П.Ларионов, В.Б.Дементьев, С.А.Кривопапов

Экспериментальное изучение нового антисептического средства 140

Е.С.Филиппова, Н.А.Забокрицкий, А.В.Молдованов

Изучение антибиотикорезистентности некоторых пробиотических штаммов 142

А.Л.Хохлов, Н.В.Смирнова

Особенности воспалительных изменений мокроты у курильщиков и при отказе от курения 144

А.А.Шумков, Е.В.Супрун, В.В.Шумянцева, А.И. Арчаков

Сенсорные электрохимические системы для анализа кардиомиоглобина 146

Б.Г.Юшков, А.Л.Ураков, Р.И.Таджиев, Л.П.Ларионов, Н.А.Забокрицкий, С.А.Кривопапов

Показатель кислотности гнойных экссудатов в химико-фармакологическом исследовании 148



Спонтанный хламидиоз у обезьян как модель хламидийной инфекции

В.В.Слободенюк¹, Н.Н.Каркищенко^{1,4}, С.С.Афанасьев¹, Б.А.Лапин²,
В.А.Алешкин¹, А.В.Караулов³, Ю.В.Несвижский³, С.Ю.Пчелинцев¹,
Э.К.Джикидзе², М.С.Афанасьев³, Е.А.Воропаева¹

¹ – Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского, Москва

² – НИИ медицинской приматологии РАМН, Сочи – Адлер

³ – Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

⁴ – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Контактная информация:

Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского,
125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10; Тел. (495)708 - 02 - 62, e-mail: info@gabrich.com.

НИИ медицинской приматологии РАМН, 354376, Сочи – Адлер, Веселое – 1;
Тел. (8622) 42 - 22 - 39, e-mail: blapin@yandex.ru.

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая,
8, стр. 2; Тел. (495)248 - 71 - 07, e-mail: nesviz@mail.ru.

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, e-mail: niknik2808@yandex.ru.

Впервые описаны проявления и течение хламидийной инфекции у низших обезьян. Применение разработанных тест – систем верификации хламидий до вида, а также плазмидных и бесплазмидных вариантов *Ch. trachomatis* позволило повысить диагностическую значимость культурального метода. Установлена роль плазмиды у *Ch. trachomatis*, как фактора вирулентности. Выявлена в 52,4% случаев циркуляция бесплазмидных вариантов *Ch. trachomatis*. Установлена принадлежность штаммов *Ch. trachomatis* к генотипам E (бесплазмидный) и G (плазмидосодержащий). Штаммы различаются по способности аккумулировать гликоген в хламидийных включениях в культуре клеток (у плазмидных вариантов), а также по экспрессии гена *incA* на уровне белка. Генотипические и фенотипические свойства штаммов обуславливают характер и тяжесть инфекционного процесса. Предложенные модифицированные культуральный и молекулярно – генетические методы для верификации хламидий объективизируют оценку генотипических и фенотипических свойств хламидий, оценивают выраженность инфекционного процесса и прогнозируют исход хламидийной инфекции. Выявлено филогенетическое родство штаммов, выделенных от обезьян, со штаммами, выделяемыми от человека. Приматы со спонтанной хламидийной инфекцией могут применяться в качестве модели для апробации фармакологических препаратов.

Ключевые слова: хламидии, генотип, штаммы, модель, обезьяны, хламидиоз.

Инфекционные заболевания, вызываемые облигатными внутриклеточными микроорганизмами семейства *Chlamydiaceae*, являются одной из ак-

туальных задач современного здравоохранения, ввиду широкого распространения их во всем мире [2, 3, 4]. Среди группы возбудителей хламидийных инфек-

ций животных и человека, известных под общим названием «хламидиозы», особое значение для медицины представляют хламидии двух родов *Chlamydia* и *Chlamydophila*, носящие антропонозный характер: вид *Chlamydia trachomatis*, вызывающий различные урогенитальные заболевания (уретрит, цервицит, эндометрит, простатит, орхит и др.), патологию беременности и родов, некоторые формы артрита, трахома, лимфогранулема венерум, патологию органов дыхания, офтальмию новорожденных, и вид *Chlamydophila pneumoniae* (биовар TWAR), являющийся респираторным возбудителем, а также играющий роль в патологии сердечно – сосудистой системы и головного мозга (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, инсульт, транзиторные нарушения кровообращения мозга, болезнь Альцгеймера) [17, 21].

Данные литературы свидетельствуют тому, что клиническое проявление хламидиоза связано с генотипом, определяющим патологию. Генотипы А, В, Ва и С ассоциированы с классической эндемичной трахомой; генотипы от D до К вызывают урогенитальную патологию (уретриты, эпидидимиты, цервициты, сальпингиты, патологию беременности и родов и др.); генотипы от L1 до L3 являются возбудителями венерической лимфогранулемы. Также было установлено, что генотипы G, I и D связаны с возникновением цервикальной клеточной карциномы, а хронические инфекции, вызванные генотипом К у женщин, приводят к бесплодию [10, 18, 20].

Патогенетический потенциал хламидий *Ch. trachomatis* также связан с носительством вне хромосомной генетической информации – плазмиды [23, 27]. Плазида играет важную роль в жизне-

деятельности *Chl. trachomatis*. Это связано, прежде всего, с тем, что плазида кодирует одной из своих рамок считывания ORF3 полипептид pgp3, который непосредственно входит в структуру мембраны хламидий и индуцирует выработку провоспалительных цитокинов в макрофагах, активизируя воспалительную реакцию в организме человека при заражении [27]. Плазида также контролирует процесс аккумуляции гликогена в хламидийных включениях, что объясняется присутствием в плазмиде последовательностей специфичных хромосомным генам (*pgi*, *mrsA1*, *glgA*, *glgB*, *glgX* и *glgP*), отвечающих за метаболизм гликогена и выполняющих функцию транскрипционного регулятора [12, 14]. Штаммы *Ch. trachomatis*, не несущие криптическую плазмиду, вызывают асимптоматическую картину течения заболевания [23]. Исследования по выявлению степени вирулентности штаммов показали, что 50% инфицирующая доза бесплазмидного штамма в 400 раз превышает аналогичную дозу штамма, несущего плазмиду [12].

Вирулентность хламидий обусловлена способностью непрерывно инфицировать клетки, образующиеся в процессе деления материнской клетки, в месте поражения. Это так называемое каскадное инфицирование, за которое отвечает белок, входящий в состав мембраны включений хламидий – *IncA* [24]. Он не только отвечает за вакуолизацию хламидийных включений, но и за образование вторичных включений, формирующих внутриклеточные ниши (микротрубочки), в которых происходит цикл развития телец хламидий [22, 25]. Отсутствие экспрессии белка *IncA* приводит к замедлению деления ретикулярных телец хламидий в клетке. Штаммы *Ch. trachomatis*,

которые не экспрессируют данный белок, продуцируют множественные включения в клетке и вызывают субклиническую картину течения хламидийной инфекции [25].

Для более детального изучения жизненного цикла хламидий, особенностей структуры генома штаммов хламидий и непосредственной связи фенотипических и генотипических свойств штаммов между собой, что может помочь в разработке новых методов диагностики, лечения и профилактики, а также созданию препаратов бактерицидного действия и новых иммуномодулирующих препаратов, вакцин с целью наиболее эффективного лечения и профилактики хламидиоза, необходимо применение оптимальной экспериментальной биологической модели. По эволюционному родству и принадлежности человека к отряду приматов использование обезьян для экспериментального изучения хламидий антропонозного характера является наиболее адекватным.

Известны работы, посвященные попыткам экспериментального заражения обезьян хламидиями, выделенными от человека с воспалительными заболеваниями органов малого таза, уретритами, цервицитами, эпидидимитами, в результате чего была доказана высокая восприимчивость данных животных к хламидиям [19, 26]. Однако прежде чем рассматривать обезьян как экспериментальную модель для изучения хламидийных инфекций, необходимо знать, имеют ли обезьяны свою собственную хламидийную патологию, что может быть использовано как модель для изучения хламидийной инфекции человека без предварительного заражения в эксперименте.

Таким образом, *целью* исследования являлось проведение оценки возможности использования спонтанной хлами-

дийной инфекции у обезьян как патогенетической модели хламидийной инфекции человека.

Материалы и методы

Материалом исследования служил клинический и патологоанатомический материал от 269 низших обезьян разного вида (из которых 49 детенышей и новорожденных), обоего пола и разного возраста (от 0 дней до 27 лет): африканские обезьяны – павианы гамадрилы, павианы анубисы, зеленые мартышки, макак магот; азиатские – макаки яванские, макаки резусы, макаки лапундеры, и южноамериканская широконосовая обезьяна – капуцин белоплечий. Все обезьяны принадлежали к 4 – 5 поколению родившихся в питомнике, содержались в вольерах и клетках с центральным отоплением и водоснабжением. Животные получали сбалансированный по всем питательным показателям гранулированный корм, овощи и фрукты.

От живых животных материалом служили мазки – соскобы из цервикального канала и уретры у самок и уретры у самцов, конъюнктивы глаз. Для серологических исследований кровь брали венепункцией, натошак. Образцы цельной крови инкубировали 1 час при температуре 37° С, затем центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин. Сыворотку переносили в отдельную пробирку и хранили при минус 20° С не более двух недель. От погибших животных материалом исследования служили соскобы из УГТ, задней стенке глотки, паренхиматозные органы.

В результате проведенного исследования по установлению роли хламидийных инфекций в спонтанной патологии обезьян был впервые применен комплекс методов лабораторной диа-

гностики хламидиозов, применяемых в клинической практике, для установления распространения хламидиозов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* у низших обезьян (культуральный, молекулярно – генетический, цитологический, иммунологический).

Цитологический метод. Взятый материал из урогенитального тракта (УГТ), конъюнктивы, задней стенки глотки в виде мазков – соскобов, а также мазков – отпечатков органов от павших животных, наносили на обезжиренные предметные стекла, высушивали на воздухе и фиксировали не менее 15 – ти минут в 96° этиловом спирте для последующей окраски и микроскопии. Окраску мазков проводили по Романовскому – Гимзе и раствором Люголя, согласно общепринятой методике [5, 6].

Серологический метод. Выявление антител (АТ) IgM – АТ, IgA – АТ и IgG – АТ к *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* у обезьян проводилось на тест – системах производства НПО «Диагностические системы» (Н. Новгород). Постановку реакций проводили в соответствии с инструкциями по применению, прилагаемых производителем.

Культуральный метод. Соскобным материалом, полученным при взятии материала, инфицировали суточную культуру клеток McCoу, выращенную на покровных стеклах, помещенных в лунки 24 – луночных планшет [1]. Детекцию хламидий в культуре клеток проводили окрасками по Романовскому – Гимзе, или раствором Люголя, или мечеными моноклональными антителами для выявления антигенов хламидий в реакции ПИФ и НИФ (тест – система CeLLabs, Австралия). Для повышения информативности культурального метода применяли разработанные способы детек-

ции и идентификации хламидий до вида и детекции плазмидных и бесплазмидных штаммов [8].

Молекулярно – генетические методы. В работе использовали набор для выделения ДНК из мазков и соскобов «ДНК – сорб – АМ» (НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора г. Москва). Для ПЦР амплификации ДНК *Ch. trachomatis* использовали коммерческий набор реагентов «АмплиСенс *Chlamydia trachomatis* – FL» (НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора г. Москва).

Для диагностики хламидийной инфекции был впервые применен разработанный способ мультиплексной детекции и идентификации *Chl. pneumoniae* и *Ch. trachomatis* при хламидиозе человека или обезьян. Для детекции штаммов *Ch. trachomatis*, несущих плазмиду и свободных от нее, был впервые применен предложенный способ мультиплексной диагностики плазмидных и бесплазмидных штаммов [8].

Молекулярно – генетическое типирование штаммов *Ch. trachomatis* осуществляли общепринятым и новым разработанным способом [7, 18].

Анализ антибиотикорезистентности штаммов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* проводили выявлением генов устойчивости к тетрациклам (*tet – M* и *tet – O*) и макролидам (*erm*) [13, 15].

Проведены филогенетический анализ 16S – 23S срединного рибосомального участка и домена I гена 23S *pPHK* и оценка эволюционного расхождения между последовательностями штаммов хламидий обезьян в сравнении с представителями порядка *Chlamydiales*, представленных в электронной базе данных NCBI GenBank в результате секвенирования [16].

Результаты

Установлено широкое распространение хламидийной инфекции в популяции низших приматов как при патологии УГТ, так и при патологии органов дыхания и органов зрения. Встречались единичные случаи поражения нервной системы (головной мозг) и желудочно – кишечного тракта (прямая кишка). Причем процент инфицированности обезьян не зависит от вида, пола и возраста животных, то есть, чувствительность к хламидиозам одинаковая. Восприимчивы как детеныши до года, так и взрослые особи, самцы и беременные самки (внутриутробное заражение плода). Основную долю инфицированных хламидиями составили животные репродуктивного возраста – 39,4% из общего числа обследованных приматов, и 18,2% – детенышей и новорожденных. В результате исследования было также установлено, что в популяции приматов при хламидийной патологии выявляется не только монохламидийная инфекция (при патологии УГТ и органов зрения – *Ch. trachomatis*, при патологии органов дыхания – *Chl. pneumoniae*), но и микст – инфекция, вызванная *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*. В частности, это наблюдали при исследовании материала от павших животных (взрослых и детенышей) при пневмохламидиозе. Так, из 13 обследованных павших животных с патологией органов дыхания у 30,7% обезьян из тканей легких была выделена *Ch. trachomatis*, причем у 50% из них выделена *Ch. trachomatis* в комплексе с *Chl. pneumoniae*, а у 23% животных обнаружен монопневмохламидиоз, обусловленный видом *Chl. pneumoniae*. При патологии УГТ и других систем *Ch. trachomatis* была верифицирована в плаценте у 23%

самок при патологических родах, в предстательной железе, в прямой кишке и тканях головного мозга при менингите *Ch. trachomatis* выделена у 7,7% животных. Численность инфицированных новорожденных и детенышей обезьян из общего числа (49 обследованных) составило 36,7% особей с различной патологией – мертворождение – 28%, отек головного мозга – 5%, пневмония – 17%, пневмопатия – 17%, гипотрофия – 28%. У 44% детенышей присутствовала микст хламидийная инфекция, возбудители были обнаружены не только в патологичном органе (пневмония, пневмопатия – легкие), но и в других органах – печень, селезенка, почки. Вид *Chl. pneumoniae* регистрировался преимущественно при патологии органов дыхания, в то время как *Ch. trachomatis* являлся причиной гипотрофии и мертворождения. Обнаружение возбудителей хламидиозов при патологии различных органов свидетельствует о системном распространении инфекции клетками лимфоидной ткани из первичного очага поражения.

При обследовании приматов с выраженной клиникой течения хламидийной инфекции УГТ, что проявлялось у самок абортными, эндометритами, цервицитами, у самцов – уретритами, с заболеваниями органов зрения – конъюнктивитами и кератоконъюнктивитами, применяя комплекс лабораторных методов, установлен высокий процент выявляемости хламидий при применении культурального метода, ПЦР и ИФА (100%), умеренный при цитологическом методе исследования (75%). При обследовании животных, имеющих в анамнезе хронические заболевания УГТ (бесплодие, аборты, цервициты, уретриты), а также животных с хроническими заболеваниями органов дыхания без выраженных клинических

признаков процент выявляемости хламидий при применении культурального метода составил 29%, ПЦР – 58%, ИФА – 62%, цитологического метода – 0% [9].

Осуществление детекции и идентификации *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* при микст – инфекции у обезьян в культуре клеток мечеными моноклональными антителами было невозможным из – за перекрестных результатов взаимодействия антител, в том числе и методом ПЦР с использованием коммерческих тест – систем мультиплексной детекции хламидиозов, из – за отсутствия таковых. Поэтому был разработан способ видовой детекции и идентификации хламидиозов *Ch. trachomatis* и *Ch. pneumoniae* с помощью оригинальной мультиплексной ПЦР [11]. Ряд штаммов *Ch. trachomatis*, полученных от обезьян, не верифицировались коммерческой тест – системой «Ампли-Сенс *Chlamydia trachomatis* – FL» по причине направленности в данной системе праймеров к плазмидной ДНК возбудителя. А в результате постановки ПЦР с применением специфических универсальных праймеров на различные эпитопы ДНК возбудителя было установлено, что данные штаммы *Ch. trachomatis* являются бесплазмидными. В случае ложноположительных результатов, при использовании коммерческих систем, стало необходимым разработать способ диагностики методом ПЦР штаммов *Ch. trachomatis* как несущих плазмиду, так и бесплазмидных вариантов [10].

Используя разработанные способы, детектировано и изолировано от обезьян 26 штаммов *Ch. trachomatis* и 5 штаммов *Chl. pneumoniae*.

В результате исследования 21 штаммов *Ch. trachomatis*, полученных при патологии УГТ, органов зрения обезьян системой для верификации плазмид уста-

новлено наличие носительства криптической плазмиды у 10 (47,6%) штаммов. Остальные 11 (52,4%) штаммов были бесплазмидными [8]. При культивировании штаммов *Ch. trachomatis* в культуре клеток МсСоу были выявлены множественные внутриклеточные хламидийные включения у 11 (42,3%) из 26 штаммов. Кроме того, было показано, что у плазмидных вариантов *Ch. trachomatis* хламидийные включения имели более крупный вид, по сравнению с бесплазмидными вариантами, что обусловлено синтезом и накоплением гликогена в хламидийных включениях [1]. За счет применения способов видовой детекции и идентификации хламидиозов и верификации плазмидных и бесплазмидных штаммов предложенными оригинальными ПЦР – тест – системами удается повысить до 100% диагностическую значимость культурального метода исследования на хламидиоз, и предотвратить возникновение ложноотрицательных и ложноположительных результатов при применении для детекции в культуре клеток различных методов окраски внутриклеточных хламидийных включений.

Определена принадлежность штаммов *Ch. trachomatis* к генотипам. По результатам исследования установили циркуляцию в популяции обезьян двух генотипов: генотипа Е (42,3%) и G (57,7%) [7]. Штаммы с генотипом Е, выделенные от обезьян, являлись свободными от криптической плазмиды, в то время как штаммы с генотипом G – носители плазмиды. У плазмидных штаммов уровень и накопление гликогена в хламидийных включениях был значительно выше, чем у бесплазмидных. Культивирование штамма генотипа Е в культуре клеток характеризовалось образованием множественных внутриклеточ-

ных хламидийных включений. Это свидетельствует об отсутствии у данного генотипа экспрессии гена *incA*, играющего роль в формировании мембраны хламидийных включений. Штаммы с генотипом Е были выделены от животных без проявления клинических признаков инфекции, но имеющих в анамнезе хронические заболевания УГТ, а штаммы с генотипом G были получены от обезьян с выраженными клиническими признаками заболевания УГТ, что характеризует их различную вирулентность. Показано, что хламидии генотипа G у обезьян обуславливают патологию органов зрения и органов дыхания, что не было характерно для генотипа Е, который встречался только при патологии УГТ.

Проведенный анализ антибиотикорезистентности у 26 штаммов *Ch. trachomatis* и у 5 штаммов *Chl. pneumoniae* с помощью ПЦР, с целью определения генов устойчивости к тетрациклинам (*tet-M* и *tet-O*) и макролидам (*erm*), выявил из 26 штаммов *Ch. trachomatis*, выделенных от обезьян, наличие *tet* – гена у 4 (15,4%). Три штамма с геном устойчивости относятся к генотипу Е и один к генотипу G. Присутствие *erm* – гена у штаммов *Ch. trachomatis* выявлено не было. У штаммов *Chl. pneumoniae* детерминанты устойчивости к тетрациклинам и макролидам не зафиксированы [7].

Впервые установлено филогенетическое положение штаммов хламидий, полученных от обезьян, в семействе *Chlamydiaceae*, что эти штаммы хламидий действительно принадлежат к видам *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*. По результатам сравнительного анализа родства, эволюционного расхождения нуклеотидных последовательностей 16S – 23S срединного рибосомального участка и домена I 23S рРНК и определения

филогенетического положения штаммов *Chl. pneumoniae* и *Ch. trachomatis*, выделенных от обезьян, впервые было установлено родство данных изолятов с подобными штаммами, выделенными от человека, а также, со штаммами, нуклеотидные последовательности которых представлены в электронной базе данных GenBank.

Гомология штамма *Chlamydophila pneumoniae*, выделенного от обезьян, с человеческими штаммами *Chlamydophila pneumoniae* составила 98 – 99%. Изучаемый бесплазмидный штамм *Chlamydia trachomatis*, генотипа Е, полностью идентичен известному *Chlamydia trachomatis* L2/434/BU (100% гомологии), плазмидный обезьяний штамм *Chlamydia trachomatis*, генотипа G гомологичен как человеческим, так известным штаммам *Chlamydia trachomatis* из NCBI GenBank на 98 – 99%.

Результаты и их обсуждение

Изучение спонтанной хламидийной инфекции у обезьян представляет собой огромное практическое и теоретическое значение для инфекционной патологии человека, ввиду близкого родства приматов и человека. Были изучены проявления и течение хламидиоза у обезьян и показана возможность их верификации применяемыми методами лабораторной диагностики. Показано, чем более выраженная клиническая картина течения заболевания, тем чаще положительные результаты регистрировались при применении комбинации методов ИФА, ПЦР, культурального и цитологического. При хронизации процесса положительный результат дает ПЦР и ИФА, либо только ИФА. При различных формах течения инфекции диагностическая значимость

методов детекции хламидий определяется, прежде всего, свойством возбудителя пребывать как в активной фазе жизнедеятельности, так и в состоянии персистенции. Установлено системное поражение животных хламидийной инфекцией, в особенности павших детенышей и мертворожденных обезьян, как при монохламидиозе, так и при микстхламидиозе. Регистрировалась детекция возбудителей в различных системах органов культуральным методом и методом ПЦР.

Применение разработанных систем верификации хламидий до вида, а также плазмидных и бесплазмидных вариантов *Ch. trachomatis* позволило повысить диагностическую значимость культурального метода диагностики, исключить ложноотрицательные результаты при применении коммерческих ПЦР тест – систем диагностики, проводя диагностику *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*.

С целью характеристики инфекционного процесса установлена роль плазмиды у *Ch. trachomatis*, как фактора вирулентности. Интересен тот факт, что характеризуя распространенность штаммов *Ch. trachomatis*, выявлена в большем проценте случаев циркуляция в популяции обезьян бесплазмидных вариантов (52,4%), чем можно объяснить в ряде случаев асимптоматическое проявление хламидийной инфекции у приматов.

Определена принадлежность штаммов *Ch. trachomatis* к генотипам E (бесплазмидный) и G (плазмидосодержащий). Выявлена связь генотипических свойств штаммов хламидий с фенотипическими проявлениями при культивировании в культуре клеток. Штаммы различаются по способности аккумулировать гликоген в хламидийных включениях в культуре клеток (у плазмидных вариантов), а также по экспрессии гена *incA* на уровне белка.

В сопоставлении характеристик штаммов и клиники проявления хламидийной инфекции, вызванной штаммом конкретного генотипа, установлена зависимость между генотипом и клиническими проявлениями. Генотипические и фенотипические свойства штаммов обуславливают характер и тяжесть инфекционного процесса у обезьян при хламидийной патологии.

Отсутствие детерминант антибиотикорезистентности у хламидий от обезьян свидетельствует о перспективе использования данных групп препаратов для осуществления антибиотикотерапии, в связи с тем, что не проводилось лечение и не появилась устойчивость к данным препаратам. В результате чего, в перспективе обезьяны могут выступать как модель для апробации фармакологических препаратов при хламидийных инфекциях человека.

Филогенетический анализ выделенных от обезьян штаммов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae* позволил установить их место в семействе *Chlamydiaceae*. Выявлено близкое эволюционное расположение изученных оригинальных видов *Ch. trachomatis* и *Chl. pneumoniae*, циркулирующих в популяции низших обезьян, с аналогичными видами из электронной базы данных GenBank.

Впервые были показаны различия нуклеотидной последовательности 16S - 23S срединного рибосомального участка и домена I 23S *pPHK* плазмидосодержащих и бесплазмидных штаммов *Ch. trachomatis*, выделенных от обезьян, принадлежащих к разным группам генотипов.

Выводы

Изученная спонтанная хламидийная инфекция у обезьян, вызванная штамма-

ми хламидий, гомологичным человеческим, может выступать как модель для изучения хламидиоза человека. Приматы со спонтанной хламидийной инфекцией могут применяться в качестве модели для апробации фармакологических препаратов, необходимых при профилактике и лечении хламидийной патологии человека.

Предложенный комплекс модифицированных методов лабораторной диагностики хламидиоза позволяет ускорить и объективизировать верификацию возбудителя с установлением генотипических и фенотипических свойств, всесторонне оценивать выраженность инфекционного процесса и прогнозировать исход хламидийной инфекции у приматов.

Список литературы

1. *Гречишников О.Г., Слободенюк В.В., Алёшкин В.А., и др.* Фенотипическая характеристика штаммов хламидий, выделенных от человека и обезьян культуральным методом // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология, 2009. № 3, с. 36 – 45.

2. *Дмитриев Г.А.* Лабораторная диагностика бактериальных уrogenитальных инфекций. М.: Медицинская книга, Н.Новгород: Издательство НГМА, 2003. с. 336.

3. *Козлова В.И., Пухнер А.Ф.* Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий / Руководство для врачей, издание б – е, обновленное и дополненное. М.:Триада – X, 2003.С. 483,

4. *Лобзин Ю.В., Лященко Ю.И., Позняк А.Л.* Хламидийные инфекции. Руководство для врачей. СПб.: ООО «Изд – во Фолиант», 2003.С. 400,

5. *Метельская В.А., Алешкин В.А., Зверев В.В. и др.* Современные методы лабораторной диагностики хлами-

диозов // Журн. Микробиол, № 4, 2008.С. 111 – 117.

6. *Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М.* Краткое руководство по микроскопической диагностике инфекций, передаваемых половым путем. СПб.: Фолиант, 2004. С. 128,

7. *Слободенюк В.В., Караулов А.В., Алешкин В.А., и др.* Генотипирование и анализ антибиотикорезистентности штаммов *Chlamydia trachomatis*, выделенных от человека и обезьян // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология, 2009. № 4, с.74 – 81.

8. *Слободенюк В.В., Алёшкин В.А., Лапин Б.А., и др.* ПЦР – детекция и идентификация возбудителей хламидийных инфекций человека и обезьян // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология, 2009. № 3, с. 45 – 54.

9. *Слободенюк В.В., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. и др.* Сравнительная характеристика методов верификации *Chlamydia trachomatis* у человека и обезьян // Естественные науки, 2009. № 1 (26), с.65 – 71.

10. *Слободенюк В.В., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., и др.* Способ прогнозирования манифестной или стертой формы хламидийной инфекции человека или обезьян и набор для его осуществления // Пат. № 2385945 РФ МПК С 12 Q 1/68; заявитель и патентообладатель ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. – № 2008151548/13; заявл. 26.12.2008; зарег. во ФГУП «Роспатент» 10.04.2010. Опубликовано: 10.04.2010 Бюл. № 10.

11. *Слободенюк В.В., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., и др.* Способ диагностики хламидийной инфекции человека или обезьян и набор для его осуществления // Пат. № 2385946 РФ МПК С 12 Q 1/68; заявитель и патентообла-

датель ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. – № 2008151550/13; заявл. 26.12.2008; зарег. во ФГУП «Роспатент» 10.04.2010. Опубликовано: 10.04.2010 Бюл. № 10.

12. **Anttila T., Saikku P., Koskela P. et al.** Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma // *JAMA*, 2001. Vol. 285, N. 1, P. 47 – 51.

13. **Brenciani A., Bacciaglia A., Vecchi M. et al.** Genetic Elements Carrying erm(B) in *Streptococcus pyogenes* and Association with tet(M) Tetracycline Resistance Gene // *Antimicrob. Agents and chemotherapy*, 2007. Vol. 51, N. 4, P. 1209 – 1216.

14. **Carlson J.H., Whitmire W.M., Crane D.D., Wicke L., Virtaneva K.** The *Chlamydia trachomatis* Plasmid Is a Transcriptional Regulator of Chromosomal Genes and a Virulence Factor // *Infection and Immunity*, 2008. Vol. 76, N. 6, P. 2273 – 2283.

15. **Dugan J., Rockey D.D., Jones L., Andersen A.A.** Tetracycline Resistance in *Chlamydia suis* Mediated by Genomic Islands Inserted into the *Chlamydial inv* – Like Gene // *Antimicrob. Agents and chemotherapy*, 2004. Vol. 48, N. 10, P. 3989 – 3995.

16. **Everett K. D., Andersen A. A.** The ribosomal intergenic spacer and domain I of the 23S rRNA gene are phylogenetic markers for *Chlamydia* spp. // *Int. J. Syst. Bacteriol*, 1997. Vol. 47, No. 2, P. 46 – 473.

17. **Gaydos C.A.** *Chlamydia pneumoniae* and its proposed link to multiple sclerosis: To be or not to be? // *Neurology*, 2001. Vol. 56, P. 1126 – 1127.

18. **Koskela P., Anttila T., Bjorge T. et al.** *Chlamydia trachomatis* infection as a risk factor for invasive cervical cancer // *Int. J. Cancer*, 2000. Vol. 85, No. 1, P. 35 – 39.

19. **Mahony J. B., Kathy E. Luinstra, John W. Sellors and Max A. Chernesky,** Comparison of Plasmid – and Chromosome – Based Polymerase Chain Reaction Assays for Detecting *Chlamydia trachomatis* Nucleic Acids // *Clin. Microb.*, 1993. Vol. 31, No. 7, P. 1753 – 1758.

20. **Morre S.A., Rozendaal L., van Valkengoed I.G. et al.** Urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations? // *J. Clin. Microbiol*, 2000. Vol. 38, No. 6, P. 2292 – 2296.

21. **Norton R., Schepetiuk S., Kok T.** *Chlamydia pneumoniae* with endocarditis // *Lancet*, 1995. Vol. 345, N. 8961, P. 1376 – 1377.

22. **Pannekoek Y., Spaargaren J., Ankie A.J. et al.** Interrelationship between Polymorphisms of *incA*, Fusogenic Properties of *Chlamydia trachomatis* Strains, and Clinical Manifestations in Patients in The Netherlands // *Clin. Microbiol*, 2005. Vol. 43, No. 5, P. 2441 – 2443.

23. **Stothard D.R., Williams J.A.** Identification of a *Chlamydia trachomatis* Serovar E Urogenital Isolate Which Lacks the Cryptic Plasmid // *Infection and Immunity*, 1998. Vol. 66, No. 12, P. 6010 – 6013.

24. **Suchland R.J., Rockey D.D., Weeks S.K. et al.** Development of Secondary Inclusions in Cells Infected by *Chlamydia trachomatis* // *Infection and Immunity*, 2005. Vol. 73, No. 7, P. 3954 – 3962.

25. **Suchland R.J., Rockey D.D., Bannantine J.P., Stamm W.E.** Isolates of *Chlamydia trachomatis* Lack *IncA*, a Protein Localized to the Inclusion Membrane // *Infection and Immunity*, 2000. Vol. 68, No. 1, P. 360 – 367.

26. *Wesley C. Van Voorhis, Lynn K. Barrett et al.* Repeated Chlamydia trachomatis Infection of Macaca nemestrina Fallopian Tubes Produces a Th1 – Like Cytokine Response Associated with Fibrosis and Scarring// *Infection and Immunity*, 1997. Vol. 65, No. 6, P. 2175 – 2182.

27. *Zhongyu Li, Ding Chen, Youmin Zhong et al.* The Chlamydial Plasmid – Encoded Protein pgp3 Is Secreted into the Cytosol of Chlamydia – Infected Cells // *Infection and Immunity*, 2008. Vol. 76, No. 8, P. 3415 – 3428.

Spontaneous chlamidiosis in monkeys as a model of Chlamidia infection

V.V.Slobodenyuk, N.N.Karkishchenko, S.S.Afanasyev, B.A.Lapin, V.A.Aleshkin, A.V.Karaulov, Yu.V.Nesvizhsky, S.Yu.Pchelincev, E.K.Dzhikidze, M.S.Afanasyev, E.A.Voropaeva

The course and clinical picture of chlamidia infection in monkeys were described for the first time. Application of worked out test systems for species Chlamidia verification, as well as plasmid and plasmid – free strains of Ch. trachomatis allowed to increase the diagnostic value of cultural method. Role of plasmid in Ch. trachomatis as the virulence factor was revealed. Presence of plasmid – free variants of Ch. trachomatis was established in 52,4% of cases. Belonging of Ch. trachomatis strains to E (plasmid – free) and G (plasmid) genotypes was determined. The strains differ in ability to accumulate glycogen in chlamidia inclusions in cell culture (only plasmid strains) as well as in expression of incA gene. Genotypic and phenotypic properties of the strains determine character and severity of infectious process. The proposed modified cultural and molecular – genetic methods for verification make revelation of genotypic and phenotypic properties of chlamidia strains more objective, provide an opportunity for assessment of infection process severity and prognosis of outcome. Genetic relationship between the strains isolated in monkeys and humans was determined. Primates with spontaneous chlamidia infection can be used as a model for testing of pharmacological medications.

Key words: chlamydia, genotype, strains, model, monkeys, chlamydiosis.

Вокализация крыс в ультразвуковом диапазоне как модель оценки стрессового влияния обездвиживания, электрокожного раздражения и физической нагрузки фармакодинамики лекарств

Ю.В.Фокин, В.Н.Каркищенко

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

*Контактная информация: д.м.н., профессор Каркищенко Владислав Николаевич,
e-mail: vlad1672@ya.ru*

Стресс – это ответная реакция организма на экстремальные условия, нарушающие его спокойствие и равновесие. Любая ситуация, на которую организм реагирует сильным эмоциональным возбуждением, может стать причиной возникновения стресса. Стресс могут вызвать различные факторы – действующие как положительно, так и отрицательно. Изучая причины возникновения, механизм и длительность действия стресса, а также способы выхода из него, можно в определённой степени контролировать стрессовое состояние, оценивать действия фармакологических препаратов и многое другое.

Ключевые слова: крысы, стресс, иммобилизация, электрокожная стимуляция, физическая нагрузка, вокализация, ультразвук, SONOTRACK, фармакодинамика.

Стресс может быть вызван как непосредственным воздействием внешнего фактора (сильного холода, нападения врага), так и психологическим стрессором – например, ожиданием угрозы извне. Стрессовая реакция позволяет организму быстро мобилизоваться, чтобы противостоять угрозе нарушения гомеостаза (физиологического равновесия), и подготавливает организм для «борьбы или бегства». Во время стрессовой реакции организма поднимается уровень гормонов, который увеличивает скорость поступления глюкозы в мускулатуру, что должно помогать организму справляться с физическим напряжением, необходимым для достижения цели. В то же время обостряется сознание (вероятно, чтобы способствовать переработке информации) и порой притупляется

ощущение боли. Замедляются или приостанавливаются такие физиологические процессы, как рост, размножение, воспаление и пищеварение, которые не сопряжены с немедленной выгодой и требуют больших затрат энергии. Хроническая активация стрессовой реакции может иметь неблагоприятные последствия для здоровья. Если глюкоза постоянно мобилизуется, вместо того, чтобы запасаться, то здоровые ткани атрофируются, и наступает истощение. Сердечно-сосудистые изменения со временем приводят к гипертензии, что плохо сказывается на сердце, кровеносных сосудах и почках. Кроме того, когда анаболические процессы без конца откладываются, организм расплачивается нарушением восстановления тканей, снижением плодовитости, ослаблением функций

иммунной системы и повышением вероятности развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Постоянная активация ответа организма на стресс может быть вредна, хотя мало кто проживет долго, если не способен к этой реакции [1].

Цель исследования: изучение влияния иммобилизации, электрокожного раздражения и физической нагрузки как факторов стресса для лабораторных крыс на ультразвуковую вокализацию животных и оценка длительности стресс-периода.

Материалы и методы

Эксперимент проводился в НЦБМТ РАМН. Тестировались пятимесячные самцы крыс линии WAG/GY в количестве 3 особей и трёхмесячные самки крыс той же линии в количестве 3 особей. Содержание животных – по барьерной системе, в клетке со свободным доступом к питью и пище (комбинированный корм, фирма ООО «Лабораторкорм»), зоогигиенические показатели – в пределах нормы, микробиологический статус – SPF. Иммобилизацию создавали путём помещения крысы на 2 часа в узкую пластиковую бутылку с отверстием для дыхания, исключающую возможность каких-либо движений туловища в ней. Состояние стресса от электрокожного раздражения вызывали пульсирующим током такой величины, чтобы крыса не издавала звука в слышимом диапазоне (до 15 кГц). Стимуляцию осуществляли 10 минут, в течение которых крыса находилась под постоянным наблюдением. Данная процедура проходила в закрытой камере (30х30х40 см) с отверстиями для воздухообмена. С помощью этой же камеры изучалось и стресс-

совое влияние физической нагрузки. В течение эксперимента крыса передвигалась на вращающемся вале, покрытом мягким, пористым материалом (диаметр вала 7 см, скорость вращения постепенно нарастала первые 5 минут с 9 до 12 об/мин). Вал был поднят на высоту 15 см от пола. Пол камеры состоял из стальных стержней, на которые подавалось постоянное напряжение 25-35 В (ток 1 А без учёта сопротивления кожи животных). Длительность эксперимента составляла 40-50 минут с момента научения животного (прекращения падений с вала), окончание его определялось визуально, по снижению выносливости и физической усталости крысы, расслабляющей мышцы и падающей на электрический пол камеры. После чего измерялся уровень вокализации тестируемой крысы с помощью системы SONOTRACK (Mertis B.V., Netherlands) – метода анализа ультразвука, издаваемого лабораторными животными. Специальные микрофоны и оборудование позволяли регистрировать сигнал частотой от 20 до 100 кГц и записывать его в цифровом формате для дальнейшей обработки [2]. Длительность регистрации – 10 минут. В предыдущих опытах (с обездвиживанием и электрокожным раздражением) ультразвук записывался непосредственно в период иммобилизации и во время стимуляции током. Далее крыс помещали обратно в свои клетки, с целью возвращения к нормальным условиям и адаптации. Процедура регистрации ультразвуковой вокализации повторялась через 1,5 часа. Полученные в программе SONOTRACK числовые значения обрабатывались с помощью Microsoft Office Excel, после чего находились медианы необходимых частот в диапазонах 20-30, 30-60, 60-80 и 80-100 кГц.

Результаты и их обсуждение

Результаты эксперимента по обездвиживанию крыс (табл. 1) показали преимущественное отсутствие вокализации во время иммобилизации. Данный эффект, связанный с замиранием животных, а также появление ультразвуковых частот в диапазоне 20-30 кГц (в трёх случаях) свидетельствуют о том, что они испытывают чувства волнения и тревоги. Превышение в еди-

вывод о том, что в этот период времени у животных наблюдается ослабление стресса, они постепенно приходят в норму, но у них всё ещё отмечаются остаточные эффекты психоэмоционального шока.

Результаты, полученные в период стрессового влияния электрокожного раздражения (см. табл. 2), показали появление у обеих групп животных вокализации в диапазонах 20-30 и 60-80 кГц. Значения медиан частот в диапазоне 30-

Таблица 1

Иммобилизация крыс (в течение 2 часов)

Группа животных	Функциональное состояние	Интервал нахождения медиан ультразвуковых частот, кГц			
		20-30	30-60	60-80	80-100
Самцы	Комфорт	–	37,18	–	–
	Иммобилизация	25,38	–	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	36,99	–	–
Самки	Комфорт	–	39,85	–	–
	Иммобилизация	–	–	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	–	–	–

ничном случае уровня ультразвуковых колебаний в диапазоне 30-60 кГц по сравнению с фоновыми значениями, видимо, является следствием дискомфортного состояния, приближающегося к болевому порогу [3]. По истечении полутора часов, для крыс характерны отсутствие вокализации в диапазонах 20-30 и 30-60 кГц, а также (в половине случаев) ультразвуковые колебания в последнем диапазоне, значения которых приблизительно соответствуют состоянию комфорта. На основании данного факта, можно сделать

60 кГц превышают таковые в состоянии спокойного бодрствования, что свидетельствует о дискомфорте у животных, а наличие данных в диапазоне от 60 кГц говорит о превышении болевого порога. Преимущественное отсутствие вокализации в постстрессовый период и некоторое превышение значений медиан частот (в двух случаях) по сравнению с фоновыми числовыми значениями говорит, вероятно, о том, что животные, уже не испытывающие ударов током, продолжают находиться в стрессовом состоянии.

Электрокожное раздражение (до вокализации в слышимом диапазоне)

Группа животных	Функциональное состояние	Интервал нахождения медиан ультразвуковых частот, кГц			
		20-30	30-60	60-80	80-100
Самцы	Комфорт	–	37,18	–	–
	Эл. раздражение	25,68	43,33	63,30	–
	Последствие через 1,5 часа	–	40,28	–	–
Самки	Комфорт	–	39,85	–	–
	Эл. раздражение	27,71	46,40	65,09	–
	Последствие через 1,5 часа	–	–	–	–

Полученные результаты по влиянию физической нагрузки (см. табл. 3) показали, что в данном функциональном состоянии у животных отмечается отсутствие ультразвука во всех диапазонах, кроме 30-60 кГц. Усиление вокализации в данном интервале по сравнению с фоновыми значениями свидетельствует о том, что интенсивная физическая нагрузка (не характерная для обычной жизни исследуемых животных) является для них стресс-фактором и вызывает

ет дискомфорт. Через 1,5 часа действие данного стресса, видимо, практически прекращается, о чём говорит уменьшение медиан частот в диапазоне 30-60 кГц и возвращение их к значению, характерным для состояния спокойного бодрствования.

Исследованы влияния на ультразвуковую вокализацию в условиях моделирования стресса ряда препаратов (мексикор, идебенон, эритропозтин), которые обнаружили выраженное ноотроп-

Таблица 3

Физическая нагрузка (в среднем, 45 минут)

Группа животных	Функциональное состояние	Интервал нахождения медиан ультразвуковых частот, кГц			
		20-30	30-60	60-80	80-100
Самцы	Комфорт	–	37,18	–	–
	Физ. нагрузка	–	52,08	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	36,98	–	–
Самки	Комфорт	–	39,85	–	–
	Физ. нагрузка	–	55,07	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	38,17	–	–

ное действие на параметры поведенческих реакций животных. Результаты исследований будут представлены в дальнейших публикациях.

Выводы

1. Обездвиживание, электрокожное раздражение и физическая нагрузка являются стресс-факторами для лабораторных крыс и оказывают влияние на частоту их вокализации в ультразвуковом диапазоне.

2. Наиболее сильным стрессом является электрокожное раздражение.

3. Стрессовое влияние иммобилизации и электрокожного раздражения сохраняется у животных по крайней мере на протяжении полутора часов.

4. Стресс, испытываемый крысами при интенсивной физической нагрузке, прекращается приблизительно через

час после её окончания и достижения миорелаксации.

5. Предложенная модель может быть использована для скрининга, оценки фармакодинамики и выявления механизмов действия нейрпсихотропных средств.

Список литературы

1. *Коган Н.* Стресс и борьба за власть // Наука и техника, № 9, 2008.

2. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под редакцией *Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева*. М.: Профиль–2С, 2010, 358 с.

3. *Amir S.* Effects of ACTH on responsiveness in mice. Interaction with morphine. – *Neuropharmacology*, 1981. Vol.20. P.959–961.

Vocalization of rats in an ultrasonic range as model of estimation of stressful influence of immobilization, electroskin irritation and physical activity on a pharmacodynamics drugs

Y.V.Fokin, V.N.Karkischenko

Scientific center of biomedical technologies RAMS, Moscow

The stress is a response of an organism to the extreme conditions breaking its calmness and balance. Any situation to which the organism reacts strong emotional excitation, can become the reason of occurrence of stress. Various factors – operating can cause stress both are positive, and are negative. Studying the occurrence reasons, the mechanism and duration of action of stress, and also ways of an exit from it, it is possible to supervise a stressful condition in certain degree, to estimate actions of pharmacological preparations and many other things.

Key words: rats, stress, immobilization, electroskin stimulation, physical activity, vocalization, ultrasound, SONOTRACK, pharmacodynamics.

Альтернативные модели клеточной трансплантологии при сахарном диабете 2 типа в различные сроки заболевания

О.И.Степанова, Н.Н.Каркищенко, Н.А.Онищенко*, О.В.Баранова

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

* НФЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова, Москва

На гомозиготных мутантных мышах линии C57BL/KsYJLepr^{db/+} изучены возможности коррекции углеводного обмена, метаболических и иммунологических нарушений с помощью алло- и изогенных гемопоэтической и стромальной фракций клеток костного мозга. Опыт проводился на первой и второй стадиях заболевания. В результате экспериментов было доказано, что стволовые и прогениторные ККМ выполняют не заместительную, а биорегуляторную функцию.

Ключевые слова: сахарный диабет, мыши линии C57BL/KsYJLepr^{db/+}, стволовые клетки.

Сахарный диабет (СД) II типа относится к числу наиболее распространенных хронических неинфекционных заболеваний в мире и число больных СД продолжает, неуклонно расти. Несмотря на определенные достижения последних лет, современная медикаментозная терапия сахарного диабета по-прежнему не способна надежно препятствовать прогрессированию клинических проявлений СД и его осложнений, поэтому поиск и разработка новых подходов к лечению СД остается актуальной проблемой.

Целью нашего исследования было изучение возможности коррекции углеводного обмена, а также метаболических и иммунологических нарушений с помощью алло- и изогенных гемопоэтической и стромальной фракций клеток костного мозга (ККМ) при использовании генетической модели СД II типа на разных стадиях развития этого заболевания.

Материалы и методы

Для коррекции клинических и морфологических признаков СД II типа

использовали модель гомозиготных мутантных мышей линии C57BL/KsYJLepr^{db/+}, эта модель имеет стадийность течения заболевания и соответствующие патогенетические изменения внутренних органов. В опытных группах использовали мышей в возрасте 1 мес. (первая стадия заболевания) и в возрасте 3-4 мес. (вторая стадия заболевания). Для коррекции клинических и патогенетических нарушений заболевания использовали аллогенные клетки (гемопоэтической и стромальной фракций) клеток костного мозга (ККМ) от доноров мышей линии B10.GFP и изогенные (аутологичные) клетки (гемопоэтической и стромальной фракций) ККМ от фенотипически здоровых гетерозиготных мышей той же линии C57BL/KsYJLepr^{db/+}. Введение ККМ проводили внутрибрюшинно, возраст доноров соответствовал возрасту реципиентов, сроки наблюдений составили 2 и 4 месяца.

Опыт проводился на первой и второй стадиях заболевания. Всего было проведено 8 серий экспериментов.

I. В опытных сериях на второй стадии заболевания были введены аллогенные и изогенные ККМ:

серия 1 – 4,5-5 млн. культивированных (в течение 5 суток) гемопоэтических ККМ (ГПККМ) однократно;

серия 2 – 4,5-5 млн. некультивированных ККМ однократно;

серия 3 – семикратное введение ККМ по следующей схеме: сначала вводили 18-20 млн. ГПККМ (моноклеарную фракцию) культивированные в течение 5 суток четырехкратно с интервалом в 7 дней; затем – 6-7,5 млн. культивированных мультипотентных мезенхимальных стромальных (фибробластоподобных) ККМ (ММСК КМ) трехкратно (с интервалом в 14 дней);

серия 4 – 24-39 млн. культивированных (в течение 5 суток) ГПККМ трехкратно с интервалом 3-4 дня;

серия 5 – 24-30 млн. культивированных (в течение 14 суток) ММСК КМ трехкратно с интервалом 14 дней;

серия 6 – 100 млн. культивированных (в течение 5 суток) ГПККМ однократно.

II. В опытных сериях на первой стадии заболевания были введены аллогенные и изогенные ККМ:

серия 7 – семикратное введение ККМ по следующей схеме: сначала вводили 18-20 млн. аллогенные ГПККМ (моноклеарную фракцию) культивированные в течение 5 суток четырехкратно с интервалом в 7 дней, а затем 6-7,5 млн. культивированные (в течение 14 суток) ММСК КМ трехкратно с интервалом в 14 дней;

серия 8 – 100 млн. культивированных (в течение 5 суток) ГПККМ однократно.

У мышей-реципиентов в динамике определяли в крови содержание глюкозы, гликозилированного гемоглобина, измеряли массу тела и массу внутрен-

них органов; определяли объем выпитой воды и съеденного корма.

Результаты и их обсуждение

После введения аллогенных ККМ в одинаковых дозах (4,5-5 млн.) у животных (через 3-4 мес. после рождения) наблюдали снижение показателей уровня глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови, наиболее достоверно выраженный эффект был получен в серии с использованием культивированных клеток, а менее выраженный в серии с некультивированными ККМ. Однако, как показали наблюдения, при многократном последовательном (семикратном) применении аллогенных культивированных клеток удается достичь более пролонгированного воздействия на показатели углеводного обмена.

Применение культивированных изогенных ККМ показало следующие результаты. В группах с трехкратным введением ГПККМ в количестве 24-39 млн. и в группе с трехкратным введением ММСК КМ в количестве 24-30 млн. показатели углеводного обмена были достоверно равноценно ниже по сравнению с контролем, однако эти показатели были выше, чем в группе у животных с однократным введением в дозе 100 млн. ГПККМ. При введении такой дозы клеток удалось достичь более пролонгированного эффекта снижения показателей углеводного обмена. Однако аллогенные и изогенные ККМ во всех сериях опытов (на второй стадии болезни СД у животных) не способствовали устойчивому снижению показателей углеводного обмена, они лишь стабилизировали его на уровне более низком по сравнению с контролем.

При использовании культивированных аллогенных (при семикратном по-

следовательном введении ГПКМ и ММСК КМ) и изогенных (при однократном введении в дозе 100 млн. ГПКМ) КМ у животных на ранней стадии развития болезни СД, нам удалось достичь выраженного пролонгированного эффекта снижения показателей углеводного обмена до субнормальных величин.

Во всех опытных сериях масса тела и аппетит животных стабилизировались и удерживались на одном уровне (но их выраженность была различна), а в контрольных группах с СД II типа за аналогичный период масса тела или повышалась, или понижалась в зависимости от стадии течения болезни. Наблюдали снижение полиурии до ее полного исчезновения, особенно в сериях на ранней стадии развития болезни и в сериях (на второй стадии болезни) с использованием семикратного введения КМ и при введении 100 млн. КМ; отмечено также устранение мацерации кожных покровов в опытных сериях после клеточной терапии, тогда как в контрольной группе мацерация становилась обширной незаживающей раной, которая оставалась у животного вплоть до его гибели.

Полученные позитивные эффекты клеточной терапии в опытных сериях у животных на регуляцию углеводного обмена привели к пролонгированному сроку выживаемости, где сроки жизни были в 1,7-2,3 раза (на второй стадии заболевания СД II типа) и 2,5-2,7 раза (на ранней стадии болезни) больше по сравнению с контролем.

Результаты морфологических исследований

В поджелудочной железе (ПЖ) при введении культивированной взвеси аллогенных и изогенных КМ отмечает-

ся положительный эффект, выражающийся в увеличении количества и размеров островков Лангерганса (ОЛ), увеличении базофильных β -клеток островков, высоко достоверные результаты получены в сериях 8, 7 и 3, 6.

С целью подтверждения наличия нейроэндокринных клеток в составе ОЛ в опытных сериях использовали иммуногистохимический (ИГХ) анализ с хромогранином А. Полученные данные показали, что положительное цитоплазматическое окрашивание было выявлено практически во всех клетках островков групп с использованием КМ при разных дозах введения.

С целью установления наличия и степени пролиферативной активности клеток островковой части ПЖ после введения КМ, нами было выполнено ИГХ исследование (иммуннопероксидазный метод с АТ) с использованием маркеров репликации ДНК, антитела к Ki-67. Использование данных ИГХ маркеров показало наличие высокой пролиферативной активности в сериях 8, 7, 3, 6, 1, 4 и 5; несколько менее выраженную активность в подгруппе 2.

В печени после клеточной терапии у реципиентов наблюдали накопление гликогена от умеренной до выраженной степени содержания. Результат был достигнут за счет улучшения белкового и углеводного обменов в печени. В экспериментальных группах (серии 8, 7, 6, 3 и 4, 5) признаки жировой дистрофии гепатоцитов отсутствовали и наблюдалось хорошее накопление гликогена гепатоцитами всех отделов долек.

В ткани селезенки под действием алло- и изогенных КМ формируются крупные лимфоидные фолликулы, наблюдается интенсивная бластотрансформация лимфоидных клеток в

селезенке, что свидетельствует о восстановлении структуры селезенки, как иммуно-компетентного органа и восстановлении ее иммунорегуляторной активности, что подтвердило морфометрическое исследование и масса селезенки была значительно достоверно выше (в 2-6 раза) в сериях 8, 7, 6 и 3, и менее выражена в серии 2.

В почках во всех экспериментальных сериях после клеточной терапии наблюдали снижение степени выраженности дистрофических изменений эпителия дистальных и проксимальных канальцев, исчезновение эозинофильных масс в просвете канальцев, что было связано с нормализацией углеводного и жирового обменов.

В ходе экспериментальной работы была проведена оценка введенных аллогенных ККМ с геном зеленого белка, которая показала, что на 66 и 120 сутки по-

сле введения ККМ в организме они не погибают, а сохраняют свою жизнедеятельность, мигрируя в разные органы, в том числе в ПЖ и селезенку, стимулируя участие этих органов в ауторегенерации.

Выводы

В результате экспериментов было доказано, что стволовые и прогениторные ККМ выполняют не заместительную, а биорегуляторную функцию. В связи с этим более эффективным является применение ККМ на ранней стадии развития заболевания.

При введении ККМ на этапе выраженных клинических проявлений СД терапевтический эффект не столь резко выражен и степень его зависит от стадии деструктивных процессов в организме и сохранившегося уровня адаптационных резервов.

Alternative models of stem cells transplantation with a diabetes 2 types at various terms of disease

O.I.Stepanova, N.N.Karkischenko, N.A.Onishenko, O.V.Baranova

On homozygous mutant C57BL/KsYJLepr^{db}/₊ mice possibilities of correction of a carbohydrate exchange, metabolic and immunology infringements with allogeneic and isogena stem cells of hemopoetic and stromal fractions are studied. Experience was spent at the first and second stages of disease. As a result of experiments it has been proved that stem and progenitor stem cells carry out not replaceable, but biologically regulator function.

Key words: diabetes, C57BL/KsYJLepr^{db}/₊ mice, stem cells.



Межвидовые различия в чувствительности клеток костного мозга у мышей и крыс к индукции мутаций тиофосфамидом

Х.Х.Семенов, Н.Н.Каркищенко, Т.В.Бескова, Е.Л.Матвеевко

*Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва
Контактная информация: matveyenkoel@mail.ru*

Работа посвящена сравнительному исследованию частот aberrаций хромосом в клетках костного мозга у мышей и крыс. В эксперименте использованы мыши линии C57BL/6Y – наиболее чувствительной к тиофосфамиду (тиоТЭФ) и крысы НУ/У – низкоустойчивые к гипобарической гипоксии. Животные поддерживаются в коллекционном фонде НЦБМТ РАМН. Экспериментально установлено, что по уровню индуцированных aberrаций хромосом в клетках костного мозга крысы с высокой степенью достоверности превосходили мышей, однако по частоте спонтанных хромосомных нарушений у этих близких видов различий не обнаружено.

Ключевые слова: мыши, крысы, индукция мутаций, хромосомные aberrации.

Профилактика наследственной патологии в целом, несомненно, является важнейшим разделом современной медицины и организации здравоохранения. Это и понятно. Здоровая наследственность – главное достояние нации. Основной угрозой для наследственности являются мутагены. Это различные факторы, способные вызывать наследуемые изменения генетических структур – мутации. Мутации могут возникать в соматических и генеративных клетках, а также клетках развивающегося зародыша и плода.

Основные медицинские последствия мутаций – наследственные болезни и бесплодие, злокачественные новообразования и нарушение иммунитета, врожденные пороки развития и спонтанные аборт. Так, вновь возникающие злокачественные новообразования ежегод-

но диагностируются у 300-500 тыс. жителей России. Бесплодием, имеющим генетические причины, страдает каждая 10-я супружеская пара, а спонтанными абортами заканчивается примерно половина состоявшихся беременностей. Инвалидами по причине врожденных пороков развития становятся от 300 до 500 тыс. человек в год. Опасность мутагенных воздействий трудно переоценить, более того, она с каждым годом нарастает. Под названием мутагены объединяют различные факторы, химической, физической или биологической природы. Конечно же главными действующими мутагенными факторами для нас являются лекарственные препараты. Важным звеном в профилактике наследственной патологии, иначе в защите наследственности, являются надежные тест-системы

для выявления мутагенной активности химических соединений. И хотя химический мутагенез был открыт в 40-х годах прошлого столетия [10, 14, 17], но до сих пор не разработана чувствительная экспериментальная тест-система, которая позволила бы достаточно надежно установить мутагенный эффект химических соединений и сделать практические выводы и рекомендации. Важным звеном в этом направлении исследований остается правильный выбор экспериментальной биомодели. В настоящее время для оценки мутагенной активности химических соединений используются главным образом лабораторные мыши и очень незначительно число исследований этого процесса у крыс. Вместе с тем как по срокам развития, так и по степени генетической изученности эти виды мало отличаются между собой. Вторым важным моментом является то, что исследование такого рода целесообразно проводить с использованием веществ с хорошо изученным действием. Таковым является тиофосфамид (тиоТЭФ) – соединение, несущее три функциональные этиленовые группы. Эффект тиоТЭФ изучен на мышах [4-11], на культуре фибробластов и на лейкоцитах человека [2, 3, 15]. Это соединение вызывало высокую частоту разрывов хромосом у всех указанных объектов.

В настоящем сообщении приведены данные о характере хромосомных нарушений, возникающих после воздействия тиофосфамидом в дозе 2,5 мг/кг в клетках костного мозга у мышей и крыс.

Материалы и методы

Работа выполнена на 10 недельных самцах мышей линии C57BL/6Y – наибо-

лее чувствительных к тиоТЭФ и крысах НУ/Y – низкоустойчивых к гипобарической гипоксии, поддерживаемых в коллекционном фонде НЦБМТ РАМН. Животных как до, так и во время опыта содержали в стандартных клетках Т2 (для мышей) и Т3 (для крыс) фирмы “Velaz” и кормили гранулированным комбикормом ПК-120. В опыте и контроле были использованы по 5 животных каждого вида и изучали по 100 клеток от каждой особи. Фармацевтический препарат тиофосфамид растворяли в физиологическом растворе в концентрации 2,5 мг/кг и вводили внутривентриально сразу после разведения. Для накопления метафаз за 2,5 часа до приготовления препаратов вводили 0,025% раствор колхицина по 0,01 мг на 1 грамм веса внутривентриально. Препараты были приготовлены по общепринятой стандартной методике [16]. Для цитогенетического анализа отбирали клетки, удовлетворяющие критериям, предложенными Бочковым Н.П. с соавторами [2]. В каждой метафазной пластинке регистрировали число клеток со структурными нарушениями хромосом. Принимая во внимание возможность артефактов, связанных со спецификой приготовления препаратов, клетки с анеуплоидией не учитывались. При анализе характера повреждений хромосом регистрировали гены (ахроматические пробелы), хроматидные обмены, а также фрагменты (одиночные и парные) и кольца.

Результаты и их обсуждения

Результаты цитогенетического исследования частот и типов хромосомных повреждений, возникающих как спонтанно, так и индуцированных тио-

ТЭФ в дозе 2,5 мг/кг в клетках костного мозга у мышей и крыс представлены в таблице. При анализе препаратов костного мозга контрольных животных обоих видов зарегистрировано незначительное число клеток со структурными aberrациями: 0,2% – у крыс и 0,4% – у мышей из 500 метафаз. Структурные aberrации представлены одиночными и редко парными фрагментами (рис.). Общий процент клеток с нарушениями составил в контроле у мышей – 0,8%, у крыс – 0,6%. Результаты анализа свидетельствуют, что различия по уровню спонтанных aberrаций хромосом в клетках

воздействия тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг показал, что частота клеток со структурными aberrациями хромосом у мышей составила 9,2%, против 0,4% в контроле. По этому типу нарушений отмечено достоверное отличие опыта от контроля ($p > 0,001$). При этом основную часть повреждений хромосом составляют одиночные и парные фрагменты (7,2%). Доля ахроматических пробелов (гепы) из 500 клеток у мышей составляет 1,8% в опыте и 0,4% в контроле.

Относительно более сложных структурных aberrаций – колец и обменов, следует заметить, что их доля значи-

Таблица

Частота и спектр хромосомных нарушений в клетках костного мозга мышей и крыс после введения тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг (через 24 часа)

Показатель	Вид животных							
	Мыши				Крысы			
	Контроль		Опыт		Контроль		Опыт	
	общее число	%	общее число	%	общее число	%	общее число	%
Просмотрено клеток	500	100	500	100	500	100	500	100
Число клеток, содержащих только гепы	2	0,4	9	1,8	2	0,4	28	5,6
фрагменты	2	0,4	36	7,2	1	0,2	105	21,0
кольца	–	–	5	1,0	–	–	6	1,2
обмены	–	–	5	1,0	–	–	40	8,0
только структурные aberrации	2	0,4	46	9,2	1	0,2	151	30,2
повреждения, включая гепы	4	0,8	55	11,0	3	0,6	179	35,8

костного мозга мышей и крыс не достоверны. Анализ метафазных клеток костного мозга у этих видов животных после

только ниже. Зарегистрированы обмены с вовлечением двух хромосом, сложных обменов с вовлечением трех и бо-

лее хромосом обнаружено не было. Таким образом, суммарное количество повреждений хромосом в клетках костного мозга у мышей в опыте достоверно превышает те же показатели у контрольной группы животных. Вместе с тем при просмотре препаратов из клеток костного мозга крыс после воздействия тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг было установлено, что число поврежденных клеток (не включая гепы) из 500 составило 30,2% против 9,2% у мышей и 0,6% в контрольной группе крыс. Следовательно, частота клеток со структурными aberrациями у крыс опытной группы с высокой степенью достоверности превосходит этот показатель у мышей и тем более у крыс контрольной группы. Основным типом aberrаций, индуцированных этим мутагеном у крыс, как и у мышей, были одиночные фрагменты, появляющиеся вследствие хроматидного разрыва. На долю кольцевых хромосом приходится наименьшая часть структурных aberrаций – 1,2%. Существенную часть (26,5%), индуцированных тиоТЭФ структурных aberrаций составляют обмены. У крыс также как и у мышей преобладают обмены с вовлечением двух хромосом. Сложные обмены с вовлечением трех и более хромосом встречаются редко. Что касается клеток со множественными aberrациями, свидетельствующими об эффективности действия мутагена, то только у крыс была зафиксирована 1 клетка со множественными повреждениями хромосом. Число клеток с тремя и четырьмя повреждениями на клетку было значительно больше. Количество клеток с гепами у крыс в опыте было зафиксировано 28 (5,6%), в контроле их было лишь 2 (0,4%). Также высока была раз-

ница по этому показателю между крысами и мышами в опыте: 28 и 9, соответственно.

Наблюдаемое распределение клеток по типу и частоте aberrаций у исследуемых видов животных наглядно иллюстрирует представленная диаграмма (рис. 3), на которой отчетливо виден ответ клеток костного мозга мышей и крыс на воздействие тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг.

В целом проведенный анализ показал, что имеет место существенное межвидовое различие в чувствительности клеток костного мозга мышей и крыс к индукции мутаций тиофосфамидом. Частота хромосомных нарушений в клетках костного мозга крыс после воздействия тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг высоко достоверно превышала этот показатель мышей. В то же время, как свидетельствуют результаты исследований по спонтанному уровню aberrаций хромосом у этих близких видов различий не обнаружено.

Сравнительный анализ метафазных клеток костного мозга показал, что по уровню индуцированных тиофосфамидом хромосомных нарушений крысы высоко достоверно превосходили аналогичные показатели мышей, в то время как по числу спонтанных aberrаций хромосом различий между ними не установлено. Хорошо известно, что спонтанный и индуцированный мутагенные процессы находятся под генетическим контролем, причем гены, повышающие частоту мутирования (гены-мутаторы) в большинстве случаев оказываются дефективными генами систем генетической репарации [1]. Видимо, в геноме крыс значительно больше число дефективных генов, препятствующих генетической репарации, чем и обусловлено

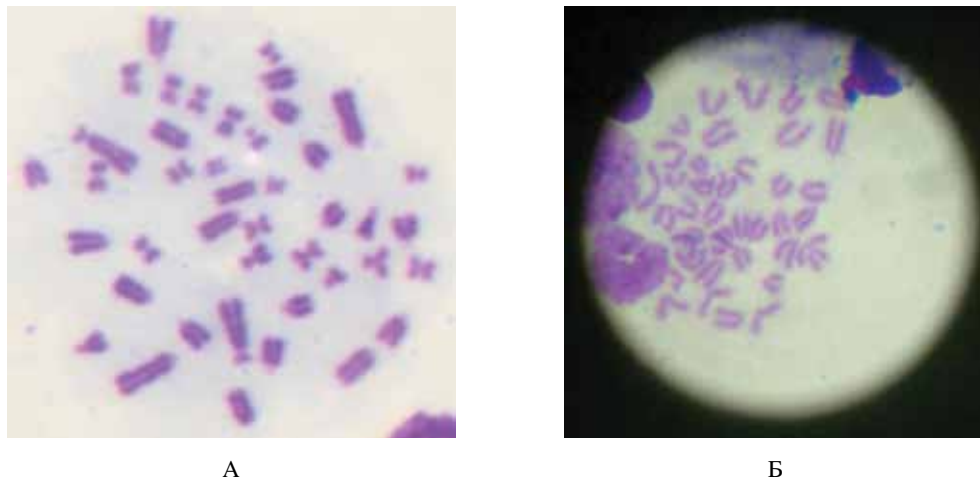


Рис. 1. Нормальный кариотип: А – крысы, Б – мыши

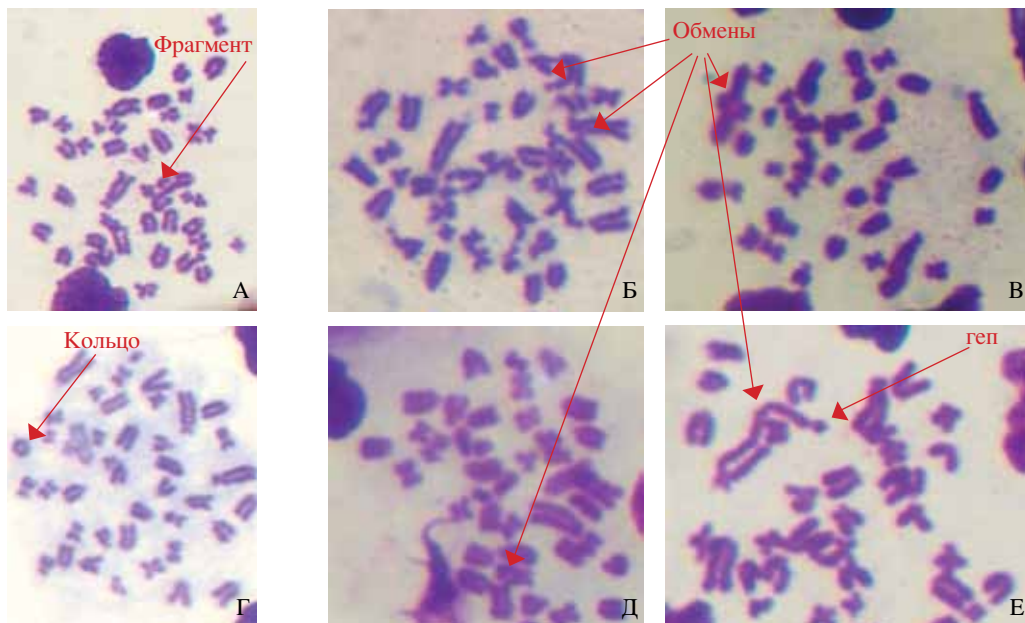


Рис. 2. Хромосомные aberrации. А – фрагмент, Б, В, Д, Е – обмен, Г – кольцо, Е – геп.

различие по частоте хромосомных нарушений между сравниваемыми видами.

Интересен еще и тот факт, что в наших ранних исследованиях на мышях была зарегистрирована положительная корреляция между ответом на мутаген и частотой спонтанных хромосомных нарушений. Она свидетельствует о генетической детерминированности ответа

на химический мутаген. Вместе с тем на крысах эта закономерность, по неизвестной причине, не была соблюдена. Напротив, частота спонтанных aberrаций хромосом у них была ниже, чем у мышей. Весьма важен вопрос о сравнительной чувствительности соматических и половых клеток. Ранее нами были проведены исследования частот доминантных

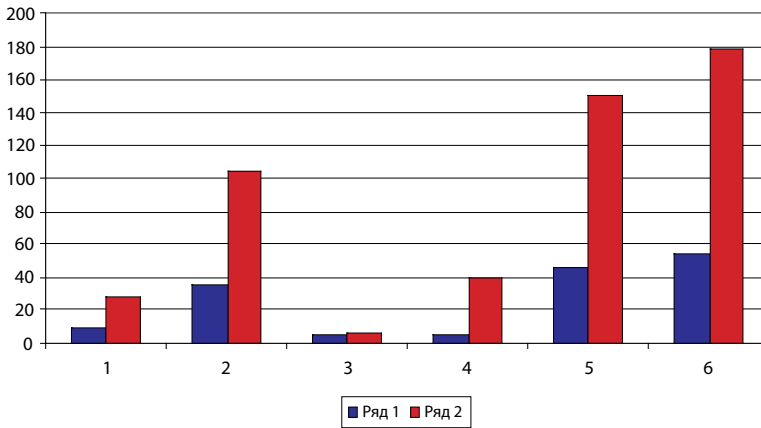


Рис. 3. Диаграмма частоты и спектра хромосомных нарушений в клетках костного мозга мышей и крыс после введения тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг. Условные обозначения: 1 – только гены; 2 – фрагменты; 3 – кольца; 4 – обмены; 5 – только структурные aberrации; 6 – повреждения, включая гены. Ряд 1 – мыши; Ряд 2 – крысы.

летелей (ДЛ), индуцированных тиоТЭФ в дозе 1,25 мг/кг в половых клетках самцов мышей [13] и крыс [12]. Установлено, что ДЛ, вызванных эффектом мутагена, составили у мышей – 38,86%, у крыс – 97,59%.

Согласно полученным экспериментальным данным можно заключить, что мужские половые клетки (сперматиды) по чувствительности к мутагену значительно превосходили соматические клетки и, что между исследуемыми видами животных по чувствительности к тиоТЭФ независимо от дозы сохранились те же соотношения, что и в варианте с клетками костного мозга.

Выводы

Проведено сравнительное исследование мышей C57BL/6Y и крыс НУ/У по частоте хромосомных aberrаций в клетках костного мозга, индуцированных тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг.

Полученные данные свидетельствуют, что эти близкие виды по ответу на

мутаген существенно различаются между собой.

Установлено, что по уровню индуцированных aberrаций хромосом крысы достоверно превосходили мышей, хотя по частоте спонтанных нарушений хромосом различий не наблюдалось.

Список литературы

1. *Ауэрбах Ш.* Проблемы мутагенеза. – М., 1978.
2. *Бочков Н.П., Козлов В.М., Севаньякаев А.В., Антошина М.М.* Анализ анеуплоидии в культурах эмбриональных фибробластов и лейкоцитов человека // Генетика, № 10, с. 120, 1966.
3. *Дубинин Н.П., Митрофанов Ю.А., Мануйлова Е.С.* Анализ мутагенного действия тиоТЭФ на клетки культуры тканей человека // Известия АН СССР, серия Биология, № 4, с. 477, 1967.
4. *Лильп И.Г., Бизикоева Ф.З., Полетаева И.И., Иванов В.И.* Поведение взрослых мышей разных линий после воздействия тиофосфамида во время органогенеза // Генетика, 199, т. 31, № 1, с. 101-110, 1995.
5. *Малашенко А.М.* Межлинейные различия в чувствительности мужских половых клеток у мышей к индукции доминантных летелей тиофосфамидом. // Генетика, т. XVI, № 9, с. 1577-83, 1980.

6. *Малашенко А.М., Семенов Х.Х.* Роль генотипа самок в проявлении доминантных летальных мутаций, индуцированных тиофосфамидом в сперматидях самцов мышей // Генетика, т. XVI, № 11, с. 2002-08, 1980.

7. *Малашенко А.М.* Некоторые закономерности химического мутагенеза у лабораторных млекопитающих // Вестник АМН СССР, 1982.

8. *Малашенко А.М., Бескова Т.Б.* Индукция хромосомных нарушений тиофосфамидом в сперматооогах мышей инбредных линий 101/НУ, ТРS/У и СВА/ЛасУ // Генетика, т. XXIV, № 3, с. 468-73, 1988.

9. *Малашенко А.М., Бескова Т.Б.* Изучение межлинейных различий у мышей по чувствительности к тиоТЭФ. Опыт с рекомбинантными линиями // Генетика, т. 31, № 7, 1995.

10. *Раннопорт И.А.* Карбонильные соединения и химический механизм мутаций // Генетика, 1946, т. 54, № 1, с. 65-67.

11. *Семенов Х.Х., Малашенко А.М.* Проявление доминантных летальных мутаций в раннем эмбриогенезе мыши // Генетика, т. XVII, № 3, 1981.

12. *Семенов Х.Х., Уолкер Д.* Индукция доминантных леталей в половых клетках самцов крыс тиофосфамидом // Тез. всесоюзн.конф. «Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований» – М., 1988, с. 124-127.

13. *Семенов Х.Х., Малашенко А.М.* Поиск гетерозиготных по транслокациям самок мышей среди потомков от самцов, подвергнутых воздействию химического мутагена (тиоТЭФ) // Цитология и генетика, т. XI, № 5, с. 454-57, 1977.

14. *Auerbach Ch., Robson T.M.* Chemical production of mutation // Nature, 1946, vol. 157, p.302-305.

15. *Bochkow N.P., Kuleshov N.P.* Age sensitivity of human chromosomes to alkylating agents // Mutat. Res., 14 No. 3, 345, 1972.

16. *Ford C.E., Hamerton J.L.* Acolchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes // Stain Technol., 31, 247, 1956.

17. *Öchkers F.* Die Auslosung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemicalen // Ztch. Indukt. Abstamm. und Vererbungst. 1943. Bd. 81. S. 313-343.

Interspecific differences in bone marrow cells sensitiveness at mice and rats to Thiophosphamide mutation inductions

H.H.Semenov, N.N.Karkischenko, T.B.Beskova, E.L.Matveenko

Work is devoted comparative research of chromosomes aberrations frequencies in bone marrow cells at mice and rats. In experiment mice of strain C57BL/6Y – the most sensitive to Thiophosphamide and rats НУ/У – low steady to hypobaric hypoxia are used. Animals are supported in collections of Scientific Center of biomedical technologies of RAMS. It is experimentally established that in level of the induced aberrations of chromosomes in bone marrow cells of a rat with high degree of reliability surpassed mice, however on frequency of spontaneous chromosomal infringements at these close kinds of distinctions it is not revealed.

Key words: mice, rats, mutation inductions, aberrations of chromosomes.



Оптимизация светлогорских мини-свиней для биомедицинских исследований

Н.В.Станкова, Г.Д.Капанадзе

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

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

Описана схема усовершенствования существующей популяции светлогорских мини-свиней. На основе отобранного исходного поголовья местного генофонда и геттингенских мини-свиней созданы 5 специализированных линий. Изучена эффективность использования геттингенских хряков в поколениях. Создана база данных по эритроцитарным антигенам групп крови.

Ключевые слова: светлогорские мини-свиньи, стандартизация, группы крови.

Использование мини-свиней в медико-биологических исследованиях в нашей стране началось еще в 1970-х годах. Тогда была создана первая отечественная порода лабораторных мини-свиней Минисибс в экспериментальном хозяйстве Института цитологии и генетики СО РАН академиком РАСХН В.Н.Тихоновым. В 1974 г., когда работа по созданию линии Минисибс была еще не завершена, частично отселекционированная популяция новосибирских свиней была завезена в Научно-исследовательскую лабораторию экспериментально-биологических моделей АМН СССР (с 2002 г. – Научный центр биомедицинских технологий РАМН). Таким образом, начался процесс селекции светлогорской мини-свиньи. Начали проводить скрещивание гибридов, полученных от ландрасов и вьетнамских свиней с белыми геттингенскими мини-свиньями, завезенных из Гер-

мании еще раньше. Полученные гибриды использовались как для разведения «в себе», так и для скрещивания с другой гибридной формой, несущей в себе гены дикого кабана. Подробно история выведения светлогорских мини-свиней была описана [3].

Таким образом, для непрерывного обеспечения лаборатории необходимым материалом для исследований, популяция долгое время была изолирована и разводилась в одинаковых условиях. При этом в популяции по численности чуть более 100 голов, очень сложно было избежать нежелательного инбридинга. Как известно, длительное разведение «в себе» ведет у животных к сужению приспособительных свойств, понижению жизнеспособности и продуктивных качеств. А бессистемный инбридинг проявляется депрессией, которая ведет к ослаблению конституции, утончению

костяка, снижению плодовитости маток и сохранности приплода.

Цель.

Целью проведенной работы являлась усовершенствование светлогорских мини-свиней и закладка новых специализированных линий в популяции.

В 2005 г. сотрудниками лаборатории для усовершенствования существующей популяции мини-свиней были поставлены задачи:

- изучить продуктивность и отобрать исходное поголовье для закладки новых специализированных линий;
- создать базу данных по эритроцитарным антигенам в популяции для поддержания генетического разнообразия и принятия оптимальных решений при ведении селекционной работы;
- изучить продуктивные качества животных под контролем групп крови;
- изучить эффективность использования геттингенских хряков в поколениях (освежение крови);
- разработать и экспериментально внедрить приемы и методы селекции 5 линий светлогорских мини-свиней по комплексу признаков (сниженные живая масса и размеры животных) и получить на их основе гибридных пользовательских животных для обеспечения лаборатории материалом для исследований;
- создать 5 специализированных линий, из них 1 – на основе животных местного генофонда и 4 – с использованием геттингенских хряков (освежение крови) при разном числе ветвей в линии и разным уровнем инбридинга;
- провести экспериментальную проверку и изучить эффективность использования новых линий в различных вариантах гибридизации.

Следует отметить, что селекционеры старались брать в основу создания линий классические методы, используемые в племенном свиноводстве. При этом возможности работы с лабораторными мини-свиньями существенно ограничены количеством животных и местом для их содержания. С другой стороны работа упрощена в связи с меньшим количеством селекционируемых признаков, в сравнении с промышленным свиноводством.

Материалы и методы

Материалом для исследований послужило половозрелое (возраст 2,5-3 года) поголовье мини-свиней светлогорской популяции (62 гол). Все поголовье было переведено в новый оборудованный виварий с оптимальными условиями содержания и кормления. Конституция животных в значительной степени связана с типом нервной деятельности, которая определяет реакцию животного на условия внешней среды. Это особенно важно при работе с мини-свиньями в лабораторных условиях. Для характеристики животных по репродуктивным качествам использовали материалы первичного зоотехнического учета прошлых лет (до 2005 г.). Для снятия промеров использовали измерительную ленту и палку. Были сняты 6 основных промеров. Продуктивность свиноматок фиксировали при рождении, на 21-й день и при отъеме в 2 мес. Для определения групп крови животные были аттестованы по 26 эритроцитарным антигенам 10 систем групп крови с использованием антисывороток-реагентов, полученных во ВНИИ племенного дела. Для выявления антигенов эритроцитов мини-свиней использовались серологические реак-

ции: прямой агглютинации (РА) и реакция связывания комплемента, называемую реакцией гемолиза (РГ) [4]. Стрессчувствительность определяли галатановым методом.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе было проведено исследование имеющихся животных племенного стада на определение продук-

Наиболее удовлетворительные животные (62 гол.) имели следующие показатели: средняя живая масса хряков – 38 кг, свиноматок – 45 кг, многоплодие составляло 5,8 поросят в среднем по стаду. Процент выбраковки составил 47,5. Отобранные животные превосходили средние показатели по стаду по многоплодию, сохранности, а также имели низкую скорость роста и живую массу (табл.1).

Таблица 1

Показатели живой массы отобранных мини-свиней

Возраст	Живая масса, кг
При рождении	0,54±0,05
На 21-й день	2,87±0,22
В 2 месяца	5,68±0,34
В 6 месяцев	18,15±0,41
В 12 месяцев	25,26±0,29
36 месяцев и старше:	
хряки	38,84±0,38
свиноматки	45,12±0,42

тивности и стрессчувствительности для закладки новых лабораторных линий. На втором этапе была проведена жесткая выбраковка стрессчувствительных животных с явными пороками экстерьера и ослабленной конституцией, а также проведен тщательный анализ родословных. Далее были отобраны исходные животные с учетом их положительной сочетаемости. Предпочтение отдавали хрякам и маткам с наименьшими размерами и массой тела, конституционально крепкими, хорошим экстерьером и уравновешенным темпераментом, крепкими конечностями при отсутствии излишней грубости и изнеженности.

Наибольшая интенсивность роста у светлогорских мини-свиней наблюдается до полового созревания, затем темп роста их значительно замедляется. Свины продолжают расти и после полового созревания, которое наступает в 4-5 месячном возрасте. Рост хряков и свинок продолжается до трехлетнего возраста. Лабораторные мини-свины разных линий отличаются по весовым характеристикам и по темпу роста в разные периоды онтогенеза. У светлогорских мини-свиней хряки весят значительно меньше, чем свинки. Двухлетний хряк весит 28-32 кг, а свинка этого же возраста весит 37-40 кг. Это связано

с интенсивным отбором, направленным на уменьшение размеров и живой массы. Поскольку мужской генотип скорее отвечает на селекцию, то, естественно, у мини-свиней вес самцов меньше, чем самок, в то время как у производственных пород, которые отбирались на большую массу и большую интенсивность роста, наоборот, вес самцов больше, чем самок. Такова специфика ответа на селекцию у особей мужского пола.

Учет особенностей экстерьера (рис.1) мини-свиней позволяет оценить их конституциональные качества и отобрать животных, отличаются не-

ятных факторов в лабораторных условиях. Промеры животных приведены ниже (табл. 2).

Животные имели следующие промеры в возрасте 3 лет и старше: высота в холке у хряков 45,3 см, у свиноматок 42,6 см, длина туловища у хряков 70,5 см, у свиноматок 82,3 см, обхват груди за лопатками у хряков 79,4 см, у свиноматок 80,8 см.

Таким образом, была сформирована линия мини-свиней на основе собственного генофонда, отселекционированная по сниженной живой массе, крепкой конституции, хорошим репродуктивным

Таблица 2

Промеры светлогорских мини-свиней

Промеры, см	Свинки	Хряки
Высота в холке	42,6±0,97	45,3±0,75
Глубина груди	23,3±0,68	23,1±0,35
Ширина груди	17,5±0,43	19,2±0,25
Обхват груди	80,8±1,31	79,4±2,27
Длина туловища	82,3±1,55	70,5±3,41
Обхват пясти	12,2±0,39	12,4±0,41



а



б

Рис.1. Взрослые особи светлогорской популяции мини-свиней: а – хряк, б – свиноматка.

прихотливостью и повышенной сопротивляемостью к действию неблагоприят-

качествам, условно ее обозначили как СМС – светлогорская мини-свинья.

Далее животные были аттестованы по 26 эритроцитарным антигенам 10 систем групп крови с использованием антисывороток-реагентов. Результаты исследования приведены в таблице 3.

Таблица 3

Частота встречаемости аллелей эритроцитарных антигенов групп крови в светлогорской популяции мини-свиней

Генетическая система	Аллель	Частота встречаемости
A	a	0,15
	o	0,62
	.	0,23
B	a	1
D	a	0,02
	b	0,98
E	aeg	0,17
	bdf	-
	bdg	0,10
	def	0,17
	deg	0,56
F	a	0,77
	b	0,23
G	a	0,08
	b	0,92
H	a	0,35
	b	0,04
	.	0,61
K	bf	0,27
	ae	0,17
	aed	0,48
	aeg	0,08
L	agi	0,16
	bdfi	0,08
	bcgi	0,58
	adi	0,04
	adik	0,14
M	a	0,02
	.	0,98

Группы крови, благодаря кодоминантной форме наследования, без рецессивных форм представляют собой удобную генетическую модель для изучения влияния на наследственную структуру организма, внутривидовых популяций и пород таких методов селекции, как линейное разведение, инбридинг, скрещивание. Таким разведением под контролем групп крови можно достичь большей однородности внутри линий и в то же время большего различия между линиями и семействами. Селекция животных в определенном направлении приводит к увеличению частоты встречаемости отдельных аллелей групп крови и уменьшению других, что свидетельствует об их сцеплении с признаками продуктивности животных.

В результате проведенных исследований светлогорской популяции минисвиней были выявлены следующие аллели по 10 системам групп крови.

– Система группы крови А представлена аллелями с частотой встречаемости: Аа – 0,15; Ао – 0,62; А. – 0,23. До сих пор эта система остается одной из наименее ясных. Антиген А свиней имеет определенное иммунологическое сходство с антигенами А у человека, J у КРС, R у овец.

– В-система представлена только одним из двух аллелей, а именно Ва с частотой 1,00. Это соответствует аналогичному показателю минисибсов.

– Диаллельная D-система также представлена аллелем – Db с частотой 0,98 и Da – 0,02. У минисибсов тоже присутствует аллель Da – 0,295.

– Полиаллельная, самая сложная E-система, представлена в популяции пятью основными аллелями: aeg – 0,17; bdg – 0,10; deg – 0,56; def – 0,17; bdf – 0,00. Аллель Edeg имеет самую боль-

шую встречаемость в E-локусе, что характерно для закавказского и среднеазиатского подвидов дикого кабана. Очень широкое распространение у диких и домашних свиней аллеля Ebdgkmps свидетельствует об их высокой адаптивной ценности. В светлогорской популяции концентрация аллеля Ebdgkmps составила 0,08.

– Диаллельная F-система представлена двумя аллелями: Fa – 0,77; Fb – 0,23. Практически все подвиды дикого кабана (за исключением дальневосточных кабанов) мономорфны по аллелю Fb. Аллель Fa довольно часто встречается у домашних свиней азиатского происхождения и у европейских пород, выведенных с их использованием. При изучении Минисибс было установлено генетическое сцепление локуса I, контролирующего эпистатичную белую пигментацию кожи и волосяного покрова у свиней, с локусом системы F групп крови при расстоянии между ними 16,7 сМ. Лocus белой масти расположен на расстоянии 49,7 сМ от центромеры хромосомы № 17.

– Диаллельная G-система представлена двумя аллелями: Ga – 0,08; Gb – 0,92. У минисибсов большей концентрацией обладает аллель Gb – 0,668.

– Полиаллельная H-система представлена следующими аллелями: Ha – 0,35; Hb – 0,04; H. – 0,61. У минисибсов преобладает аллель Hb – 0,589, аллель H. – отсутствует. Исследования по изучению связи групп крови с толщиной шпика [1, 2, 7] показали, что генотип Ha/. - оказался связанным с более низкой толщиной шпика. Также изучена связь генотипов Ha/. и H./. со стрессчувствительностью. В светлогорской популяции концентрация их составила 0,35 и 0,61 соответственно.

– Полиаллельная К-система представлена следующими аллелями: Kbf – 0,27; Kae – 0,17; Kaed – 0,48; Kaeg – 0,08.

– Полиаллельная L-система представлена следующими аллелями: Lagi – 0,16; Lbdfi – 0,08; Lbcgi – 0,58; Ladi – 0,04; Ladik – 0,14. Самая большая концентрация наблюдается по аллелю Lbcgi. Такая концентрация характерна для европейского подвида дикого кабана. Аллель Lbdfi, по данным В.Н. Тихонова, С.В. Никитина [5], связан с высокой жизнеспособностью. В светлогорской популяции концентрация его составила 0,08.

– Полиаллельная М-система представлена двумя аллелями: Ма – 0,02; М. – 0,98. Уровень гомозиготности при этом в популяции составлял 0,64.

После тщательного анализа полученных данных было принято решение о необходимости проведения приема «освежения крови» светлогорской популяции путем скрещивания их с мини-свиньями другого разведения. Для этих целей были выбраны геттингенские мини-свиньи (рис.2) и были завезены 3 хряка и 3 свиноматки.

Животные имели живую массу при рождении 0,45 кг; в полгода – 9-11 кг; в 2 года и старше 30-35 кг. Животные имели белую масть, уравновешенный темперамент и хорошую конституцию.



Рис. 2. Геттингенская мини-свинья.

Лучших по плодовитости, экстерьеру и конституции светлогорских маток скрещивали с геттингенскими хряками. Помесей первого поколения оценивали по экстерьеру, сохранности, стрессустойчивости, росту и развитию. Помесей первого поколения после оценки их наследственных качеств снова скрещивали со светлогорскими мини-свиньями согласно принятой в лаборатории схеме.

Выращенных животных с кровностью геттингенских мини-свиней 25 и 12,5% разводили в желательном типе. Это дало некоторые результаты: несколько снизилась живая масса при рождении и к отъему. Для дальнейшего закрепления желательных качеств использовали индивидуальный подбор и умеренный инбридинг на геттингенских хряков. При этом для спаривания были отобраны здоровые, конституционально крепкие животные. Были получены несколько выдающихся хряков и свиноматок с кровностью геттингенских мини-свиней 28,14% и 15,63%. Таким образом, вначале селекционной работы были заложены 3 генеалогические линии на основе геттингенских хряков в светлогорской популяции, условно их обозначили Ст, Вс и СЗ, а при получении улучшенных животных были определены несколько ветвей в каждой линии (в промышленном свиноводстве их называют заводскими линиями).

В свою очередь, геттингенские свиноматки были скрещены со светлогорскими хряками по той же схеме. Полученное потомство от 2 свиноматок оказалось нежизнеспособным, при смене хряка результат был тот же. В дальнейшем эти свиноматки были выбракованы. Лишь от одной геттингенской свиноматки удалось получить нескольких поросят в сочетании с двумя светлогорскими хряками. Далее схему скрещивания не меня-

ли. Таким образом, было сформировано 1 семейство условно его обозначили С8.

На данном этапе для контроля селекционного процесса животные с различной кровностью геттингенских мини-свиней были аттестованы по 26 эритроцитарным антигенам 10 систем групп крови с использованием антисывороток-реагентов, полученных так же во ВНИИ племенного дела. Для выявления антигенов эритроцитов мини-свиней использовались те же серологические реакции.

Проведенные исследования светлогорской популяции мини-свиней дали следующие результаты.

– Система группы крови А: частота встречаемости аллеля А₀ снизилась в 2,5 раза, а аллеля А – увеличилась в 2,5 раза.

– В-система осталась без изменений и представлена только одним из двух аллелей, а именно В_а с частотой 1,00.

– D-система: незначительные изменения.

– Полиаллельная E-система: выявлен аллель E_{bdf}, который не встречался раньше, частота его встречаемости составила 0,01. Частота встречаемости аллеля E_dg снизилась в 1,5 раза. По остальным аллелям изменения были незначительными.

– F-система: частота встречаемости аллелей практически не изменилась.

– G-система: частота встречаемости аллеля G_a увеличилась в 1,9 раз.

– Полиаллельная H-система: частота встречаемости аллеля H_b увеличилась в 8 раз, а аллеля H – снизилась в 2,2 раза.

– Полиаллельная K-система: частота встречаемости аллеля K_{ae} увеличилась в 2,6 раз, по остальным аллелям различия были незначительны.

– Полиаллельная L-система: частота встречаемости аллеля L_{ad}i увеличилась в 3,3 раза, а аллеля L_{ad}ik снизилась в 3,5 раза. По остальным аллелям изменения были незначительны.

– Полиаллельная M-система: выявлен аллель M_d с частотой встречаемости 0,03, который раньше не встречался.

Уровень гомозиготности в популяции при этом составлял 0,51.

Таким образом, предложенная схема скрещивания существенно «освежила» имеющуюся генетическую структуру животных и сохранила широкий полиморфизм по эритроцитарным антигенам групп крови. Выровняла уровень гомозиготности, т.е. определила равное наличие гомозиготных и гетерозиготных форм в генофонде. Иммуногенетический анализ животных позволит в дальнейшем вести наиболее целесообразный подбор и отбор.

Далее нами была изучена динамика роста поросят и воспроизводительные качества свиноматок с кровностью геттингенских мини-свиней по группам крови.

Особенность исследования заключалась в выявлении связи между высоким многоплодием свиноматок и низкими показателями живой массы поросят на 21-й день и в 2 мес. по группам крови. По всем показателям продуктивности различия между генотипами были проанализированы статистически. Показатели представлены в табл. 4.

Из анализа данных таблиц 4 и 5 следует, что по системе А лучшей жизнеспособностью обладали поросята, полученные от свиноматок с генотипом А_a/., при этом многоплодие этих свиноматок в данной системе было самым низким. Основное количество свиноматок имело генотип А₀/ и обладало хорошими показателями по многоплодию и сохранности

**Многоплодие свиноматок и количество поросят на 21-й день и в 2 месяца
в зависимости от групп крови**

Система групп, генотип		Кол-во свиноматок, гол.	Количество поросят, гол.							
			всех при рождении		в т.ч. живых		на 21-й день		в 2 мес.	
			M±m	Cv,%	M±m	Cv,%	M±m	Cv,%	M±m	Cv,%
A	o/.	11	7,3±0,48	21,5	6,0±0,55	30,1	5,4±0,69	41,7	4,3±0,84	64,4
	./.	1	3		3		3		3	
	o/a	2	8,0±1,0	17,6	4,5±2,5	78,7	3,5±1,5	60,6	3,5±1,5	60,6
	a/.	5	6,4±0,67	23,4	6,4±0,67	23,4	6,0±0,46	39,2	6,0±0,85	39,2
B	a/a	19	6,9±0,85	26,1	5,8±0,84	37,1	5,3±0,51	42,8	4,6±0,59	55,7
D	b/b	18	6,9±0,46	27,9	5,8±0,52	37,8	5,2±0,55	44,4	4,6±0,62	56,9
	a/b	1	7		7		6		6	
E	aeg/deg	6	7,0±0,58	20,1	5,8±0,87	36,9	5,8±0,87	36,9	4,3±1,23	70
	aeg/def	4	6,5±1,26	38,8	6,5±1,26	38,8	6,5±1,26	38,8	6,5±1,26	38,8
	bdg/deg	2	7,0±1,0	20,2	6,0±2,01	47,2	6,0±2,01	47,2	4,5±2,51	78,7
	deg/deg	2	4,5±1,5	47,1	4,5±1,5	47,1	4,0±2,01	70,8	4,0±2,01	70,8
	deg/def	4	8,5±0,65	15,2	5,5±1,32	47,6	4,0±1,23	61,3	3,3±0,86	51,8
	aeg/bdf	1	7		7		6		6	
F	b/b	1	6		6		5		0	
	a/b	10	7,0±0,60	27,1	5,7±0,74	41,4	5,4±0,83	48,7	5±0,87	55,1
	a/a	8	7,0±0,73	29,6	5,9±0,77	36,8	5,1±0,72	39,8	4,8±0,70	41,3
G	b/b	13	6,9±0,55	28,7	5,5±0,66	43,1	5,0±0,72	51,6	4,5±0,81	64,4
	a/b	6	7,0±0,73	25,6	6,3±0,67	25,9	5,8±0,54	22,9	4,8±0,75	38,1
H	a/b	1	6		6		5		0	
	a/.	13	7,1±0,58	29,6	5,9±0,65	39,5	5,4±0,71	47,6	5,0±0,74	53,1
	./.	5	6,8±0,66	21,8	5,4±0,92	38,3	5,0±0,77	34,6	4,6±0,75	36,3
K	aedg/aedg .	73	5,7±0,33	10,1	5,0±0,58	20,1	4,7±0,34	12,3	2,0±1,16	100
	ae/ae	3	8,3±0,66	13,9	6,3±1,77	48,6	5,0±2,31	80,1	5,0±2,31	80,1
	ae/bf	6	7,0±0,93	32,6	6,7±0,76	27,8	6,2±0,70	27,7	5,8±0,79	33,4
	aedg/bf	3	8,0±0,58	12,5	5,7±1,86	56,3	5,3±1,77	57,7	4,7±1,45	53,4
	aed/aed	1	6		6		6		6	
	aed/bf	3	6,0±1,53	44,2	4,3±1,33	53,5	4,0±1,53	66,3	4,0±1,53	66,3
L	agi/bcgi	6	6,2±0,31	12,1	5,8±0,48	20,2	5,5±0,43	19,1	4,0±1,07	65,3
	adik/bcgi	4	8,0±0,58	14,4	6,5±1,26	38,8	5,5±1,71	62,1	5,5±1,71	62,1
	adi/bcgi	5	7,2±1,07	33,2	4,8±1,32	61,5	4,6±1,40	68,1	4,4±1,29	65,5
	bdfi/bcgi	2	6,5±3,51	76,2	5,5±2,51	64,4	4,5±1,5	47,1	3,5±0,49	20,3
	bcgi/bcgi	1	7		7		7		7	
	agi/agi	1	7		7		6		6	
M	a/.	5	6,8±0,86	28,2	6,4±0,51	17,8	5,8±0,34	14,5	4,2±1,20	63,8
	./.	14	7,0±0,51	27,4	5,6±0,64	43,1	5,1±0,69	50,8	4,8±0,70	54,4

Сохранность поросят по генотипам групп крови свиноматок

Система групп, генотип		Кол-во свиноматок, гол.	Сохранность поросят, %			
			при рождении	от рождения до 21 дня	от рождения до 2 мес.	от 21 дня до 2 мес.
A	o/.	11	82,2	73,9	58,9	79,6
	o/a	2	56,3	43,8	43,8	100
	a/.	5	100	93,8	93,8	100
B	a/a	19	84,1	76,8	66,7	86,8
D	b/b	18	84,1	75,4	66,7	88,5
E	aeg/deg	6	82,9	82,9	64,1	74,1
	aeg/def	4	100	100	100	100
	bdg/deg	2	85,7	85,7	64,3	75
	deg/deg	2	100	88,9	88,9	100
	deg/def	4	64,7	47,1	38,8	82,5
F	a/b	10	81,4	77,1	71,4	92,6
	a/a	8	84,3	72,9	68,6	94,1
G	b/b	13	79,7	72,5	65,2	90
	a/b	6	90	82,9	68,6	82,8
H	a/.	13	83,1	76,1	70,4	92,6
	./.	5	79,4	73,5	67,6	92
K	aedg/aedg	3	87,7	82,5	35,1	42,6
	ae/ae	3	75,9	60,2	60,2	100
	ae/bf	6	95,7	88,6	82,9	93,4
	aedg/bf	3	71,3	66,3	58,8	88,8
	aed / bf	3	71,7	66,7	66,7	100
L	agi/bcgi	6	93,5	88,7	64,5	72,7
	adik/bcgi	4	81,3	68,8	68,8	100
	adi/bcgi	5	66,7	63,9	61,1	95,7
	bdfi/bcgi	2	84,6	69,2	53,8	77,8
M	a/.	5	94,1	85,3	61,7	64,6
	./.	14	80	72,9	68,6	94,1

поросят. Разница по всем генотипам достоверна.

По системе В все поголовье свиноматок гомозиготно – a/a. Эти показатели

характеризуют все маточное поголовье в целом. Многоплодие 6,9, сохранность поросят к отъему – 66,7%.

По системе D основное количество

свиноматок имело генотип b/b , генотип a/b был представлен 1 животным (эти данные не учитывались).

По системе Е самое высокое многоплодие было отмечено у животных с генотипом deg/def , но к отъему количество поросят у этих свиноматок было минимальным (сохранность 38,8). У свиноматок с генотипом aeg/def было среднее многоплодие и 100% сохранность поросят к отъему.

По системе F и G свиноматки со всеми возможными генотипами имели практически одинаковые показатели продуктивности. За исключением $F b/b$, так как этот генотип был выявлен у 1 свиноматки.

По системе H животные с генотипом $a/.$ превосходили по всем показателям свиноматок с генотипами a/b и $./.$ Разница по всем генотипам не достоверна.

По системе K хорошие показатели по многоплодию и сохранности поросят были у свиноматок с генотипами ae/ae , ae/bf и $aedg/bf$. По плодовитости была обнаружена достоверная разница между свиноматками с генотипами $Kaedg/aedg$ и Kae/ae , при $p > 0,9$. К отъему самая низкая сохранность поросят была у свиноматок с генотипом $Kaedg/aedg$ – 35,1%.

По системе L высокие показатели многоплодия и сохранности поросят были у животных с генотипом $adik/bcgi$.

По системе M свиноматки с обоими генотипами имели практически одинаковые показатели.

Многими исследователями отмечалось отрицательное влияние на воспроизводительные качества наличие в генотипе аллелей bdg , bdf , def . При этом по данным Тихонова В.Н. с соавт. [6], аллель def связан с пренатальной жизнеспособностью поросят. Лучшими генотипами называют в первую очередь те, которые содержат аллель deg , при нали-

чие которого, в первую очередь, повышалась жизнеспособность поросят и их живая масса при рождении. У свиноматок светлогорской популяции наличие в системе Е аллеля def отмечалось высоким многоплодием – 8,5 гол.

Сложная система L в некоторых исследованиях также оказалась связанной с репродуктивными качествами, выявлено преимущество животных, имеющих в генотипе аллель $bdfi$, при этом отмечается преимущество гетерозиготного состояния по данному локусу. У свиноматок светлогорской популяции лучшими были животные с генотипом $Ladik/bcgi$.

Системы A и H имеют связь между собой и локализованы на одной хромосоме с группами сцепления генов, контролирующими важнейшие ферментативные системы, а также локусом, отвечающим за чувствительность к галотану, может определять различный уровень продуктивности. Так, при наличии в генотипе маток аллеля Aa (Ac , Aw), повышается многоплодие, а при отсутствии аллеля Ha – жизнеспособность поросят в подсосный период (особенно в условиях промышленной технологии). У свиноматок светлогорской популяции лучшими были животные с генотипами $Ao/.$ и $Ha/.$

Нами было поставлена задача по выявлению генотипов животных, которые дают здоровое потомство с минимальной живой массой.

По системе A минимальная крупноплодность была у свиноматок с генотипом $a/.$ – 0,58 кг. К отъему у поросят, полученных от свиноматок с генотипами $o/.$ и $a/.$, живая масса была минимальной.

По системе B все животные гомозиготны (a/a). Эти показатели характеризуют все маточное поголовье в целом. Крупноплодность – 0,59 кг, живая масса поросят к отъему – 4,6 кг.

**Крупноплодность, молочность свиноматок и живая масса поросят
при отъеме в зависимости от групп крови**

Система групп, генотип		Кол-во свиноматок, гол.	живая масса 1гол., кг					
			при рождении		в 21-й день		в 2 мес.	
			M±m	Cv,%	M±m	Cv,%	M±m	Cv,%
A	o/.	11	0,60±0,03	17	2,3±0,22	31,3	4,5±0,59	43,6
	./.	1	0,5		2,5		5,6	
	o/a	2	0,62±0,01	2,2	3,2±0,25	10,9	5,0	0
	a/.	5	0,58±0,07	26,9	2,1±0,19	20	4,4±0,39	19,9
B	a/a	19	0,59±0,03	18,6	2,3±1,5	29,1	4,6±0,36	33,9
D	b/b	18	0,58±0,03	18,9	2,3±0,16	29,9	4,6±0,34	34,6
	a/b	1	0,7		2,4		3,7	
E	aeg/deg	6	0,56±0,05	23,2	2,4±0,31	32,1	4,6±0,34	16,7
	aeg/def	4	0,65±0,06	16,9	2,6±0,57	43,5	5,2±0,85	32,5
	bdg/deg	2	0,59±0,03	8,8	1,9±0,15	11,1	4,3±1,3	41,4
	deg/deg	2	0,60±0,10	23,3	2,4±0,01	2,9	5,3±0,02	6,6
	deg/def	4	0,53±0,04	13,4	2,3±0,22	19,1	5,1±0,58	22,7
	aeg/bdf	1	0,72		2,4		3,7	
F	b/b	1	0,45		7,25		-	
	a/b	10	0,59±0,03	18,6	2,4±0,2	26,7	5,0±0,39	24,8
	a/a	8	0,60±0,04	18,3	2,4±0,25	29,2	4,6±0,36	21,7
G	b/b	13	0,58±0,03	20,7	2,4±0,22	32,9	4,9±0,33	24,3
	a/b	6	0,61±0,04	15,7	2,3±0,11	12,2	4,7±0,45	23,2
H	a/b	1	0,45		7,25		-	
	a/.	13	0,57±0,03	15,8	2,4±0,18	28,3	5,0±0,32	22,8
	./.	5	0,66±0,06	19,7	2,3±0,27	26,5	4,4±0,48	24,3
K	aedg/aedg .	3	0,49±0,04	1,2	1,9±0,28	25,3	4,2±1,16	38,1
	ae/ae	3	0,63±0,01	2,4	3,3±0,48	24,8	5,5±0,34	11,1
	ae/bf	6	0,59±0,45	22	2,3±0,15	16,1	4,5±0,44	23,8
	aedg/bf	3	0,68±0,06	15,9	2,1±0,49	39,5	4,4±0,85	32,7
	aed/aed	1	0,7		2,3		5	
	aed/bf	3	0,5±0,04	12	2,2±0,03	22,2	5,5±0,75	23,3
L	agi/bcgi	6	0,57±0,06	26,3	1,8±0,19	26,1	4,1±0,5	27,8
	adik/bcgi	4	0,61±0,02	7,8	3,1±0,39	25,1	5,0±0,57	22,6
	adi/bcgi	5	0,61±0,05	16,6	2,4±0,13	12,5	5,2±0,55	23,6
	bdfi/bcgi	2	0,54±0,04	10,6	2,6±0,05	2,7	5,7±0,55	1,2
	bcgi/bcgi	1	0,45		1,6		5	
	agi/agi	1	0,72		2,4		3,7	
M	a/.	5	0,52±0,05	21,5	2,1±0,23	24,3	5,1±0,28	12,2
	./.	14	0,61±0,03	16,7	2,4±0,19	29,2	4,7±0,33	26,2

По системе D основное количество свиноматок имело генотип b/b , генотип a/b был представлен 1 животным (данные не учитывались).

По системе E минимальная крупноплодность была у свиноматок с генотипом deg/def . К отъему у поросят, полученных от свиноматок с генотипами bdg/deg и aeg/deg , живая масса была минимальной.

По системе F крупноплодность свиноматок с генотипами a/b и a/a была практически одинаковой. К отъему у поросят, полученных от свиноматок с генотипом, a/a живая масса была минимальной.

По системе G свиноматки с обоими генотипами имели примерно одинаковые показатели.

По системе H минимальная крупноплодность была у свиноматок с генотипом $a/..$. К отъему у поросят, полученных от свиноматок с генотипом $./.$, живая масса была минимальной.

По системе K минимальная крупноплодность была у свиноматок с генотипом $aedg/aedg$. К отъему живая масса поросят, полученных от этих свиноматок, так же была минимальной – 4,2 кг. Низкой живой массой обладали поросята, полученные от свиноматок с генотипами ae/bf и $aedg/bf$.

По системе L минимальная крупноплодность была у свиноматок с генотипом $bdfi/bcgi$ (этот генотип был выявлен только у 2 свиноматок). К отъему у поросят, полученных от свиноматок с генотипом $agi/bcgi$, живая масса была минимальной.

По системе M минимальная крупноплодность была у свиноматок с генотипом $a/..$. К отъему у поросят, полученных от свиноматок с генотипом $./.$, живая масса была минимальной.

Результаты проведенных исследований по изучению роста и развития поросят отражены в таблице 7.



Рис.3 Свиноматка светлогорской популяции с поросятами.

**Живая масса поросят в разные периоды роста в зависимости
от групп крови**

Система групп, генотип		кол-во голов	живая масса					
			при рождении		в 21-й день		в 2 мес.	
			M±m	Cv,%	M±m	Cv,%	M±m	Cv,%
A	./.	18	614±200	13,2	2,41±0,14	24,2	5,06±0,52	23,1
	a/.	13	610±190	24,6	2,88±0,49	28,5	5,36±0,64	27,6
	o/.	4	570±70	8,8	2,28±0,65	42,1	5,66±0,46	19,4
B	a/a	35	600±10	13,3	2,56±0,11	25,8	5,24±0,21	24,1
D	b/b	31	610±90	11,5	2,62±0,44	27,1	5,31±0,52	22,6
	a/b	4	540±80	11,1	2,11±0,23	15,7	4,81±0,26	11,9
E	aeg/deg	15	610±40	4,9	2,73±0,53	31,9	4,86±0,54	24,7
	deg/def	2	610±130	16,4	3,13±0,7	39,6	4,26±0,04	2,4
	deg/deg	4	580±150	8,6	2,83±0,23	13,8	7,42±0,25	9,2
	aeg/def	6	540±50	7,4	2,41±0,04	2,5	5,61±0,49	1,2
	aeg/bdg	3	630±80	11,1	2,11±0,05	3,3	5,52±0,03	1,3
	aeg/bdf	3	620±100	16,1	1,83±0,23	17,5	4,33±0,05	2,3
	bdg/def	1	620		1,83		4,3	
	aef/def	1	640		2,5		3,4	
F	a/b	27	600±100	13,3	2,59±0,48	29,7	5,12±0,67	29,7
	a/a	4	580±70	8,6	2,54±0,48	44,5	5,83±0,78	32,4
	b/b	4	650±10	15,4	2,41±0,12	7,9	5,48±0,64	27,2
G	a/b	9	600±50	6,7	2,45±0,45	28,9	5,31±0,59	25,7
	b/b	22	610±100	13,1	2,67±0,44	27,3	5,19±0,6	26,4
	a/a	4	540±140	18,5	2,25±0,11	7,6	5,41±0,05	2,1
H	a/.	27	590±90	11,9	2,61±0,45	27,9	5,14±0,93	41,1
	./.	6	600±50	6,7	2,37±0,41	26,1	5,17±0,34	14,9
	a/b	2	800	0	2,51	0	3,41	0
K	aed/bf	19	560±10	11,1	2,48±0,13	22,4	5,66±0,31	24,4
	ae/bf	16	597±260	17,4	2,67±0,21	31,1	4,73±0,23	19,2
L	bcgi/bcgi	7	630±100	11,1	2,41±0,54	35,1	4,98±0,65	29,3
	adik/bcgi	5	600±60	8,3	3,26±0,45	24,9	5,18±0,43	18,7
	bdfi/bcgi	6	630±130	15,9	2,32±0,16	10,3	4,85±0,49	22,5
	adi/dcgi	13	570±120	15,8	2,41±0,12	7,9	5,49±0,49	20,6
	bdfi/bdfi	1	580		2,25		4,25	
	agi/bdfi	1	600		3,16		8,01	
	agi/agi	2	620	0	1,83	0	4,31	0
M	d/.	9	610±100	13,1	2,71±0,54	32,9	4,81±0,57	24,8
	./.	13	590±40	5,1	2,72±0,43	26,1	5,53±0,54	22,6
	a/.	8	560±400	58,9	2,26±0,34	24,3	5,67±0,6	25,2
	ad/.	5	560±190	25,1	2,32±0,16	10,3	4,58±0,46	21,4

Основной задачей исследований было выявление генотипов, характерных для животных с минимальной массой. При этом для исследования были отобраны только животные с крепкой конституцией.

По системе А наименьшей живой массой при рождении обладали животные с генотипом Ао/., а наибольшей животные с генотипом А./.. Живая масса поросят на 21-й день была минимальной у поросят с генотипом Ао/.. В 2 месяца минимальной живой массой обладали животные с генотипом А./., а наибольшей живой массой обладали животные с генотипом Ао/..

Система В представлена одним генотипом Ва/а. Эти показатели характеризуют весь молодняк в целом, живая масса поросят к отъему составила 5,24 кг.

По системе D в течение всех трех учитываемых периодов роста поросят наименьшей живой массой обладали животные с генотипом Da/b.

По системе Е наименьшей живой массой при рождении обладали поросята с генотипом Еаег/def, а наибольшей животные с генотипом Еаег/bdg. Разница по всем генотипам не достоверна. При этом поросята с генотипом аег/deg имели самый низкий коэффициент вариации 4,9, он был ниже по сравнению с другими в 2-3 раза. Это говорит о хорошей выравненности по живой массе при рождении поросят с данным генотипом. В возрасте 21 дня наименьшей живой массой обладали поросята с генотипом Еаег/bdf, а наибольшей – животные с генотипом Еdeg/def. Разница по всем генотипам не достоверна. В 2 месяца наименьшей живой массой обладали поросята с генотипом Еdeg/def, а наибольшей – животные с генотипом Еdeg/deg. Достоверна разница была между поросятами с генотипом deg/deg и остальными при $p > 0,95$ и $p > 0,9$.

По системе F наименьшей живой массой при рождении обладали поросята с генотипом Fa/a, а наибольшей животные с генотипом Fb/b. В возрасте 21 дня наименьшей живой массой обладали поросята с генотипом Fb/b, а наибольшей – животные с генотипом Fa/b. В 2 месяца наименьшей живой массой обладали поросята с генотипом Fa/a, а наибольшей – животные с генотипом Fa/b.

По системе G наименьшей живой массой при рождении и на 21-й день обладали животные с генотипом Ga/a. А в возрасте 2-х месяцев наименьшей живой массой обладали животные с генотипом Gb/b, а наибольшей – животные с генотипом Ga/a.

По системе H наименьшей живой массой при рождении обладали поросята с генотипом H./., а наибольшей животные с генотипом Ha/.. В возрасте 21 дня эти показатели были обратными. А в 2 месяца разницы по живой массе между животными обоих генотипов практически не было.

По системе K наименьшей живой массой при рождении и в 21 день обладали животные с генотипом Kaed/bf. Разница не достоверна. В 2 месяца поросята с генотипом Kaе/bf имели живую массу на 0,93 кг меньше, чем поросята с генотипом Kaed/bf. Разница достоверна при $p > 0,9$.

По системе L наименьшей живой массой при рождении обладали поросята с генотипом Ladi/dcgi, а наибольшей животные с генотипом Lbcgi/bcgi и Lbdfi/bcgi. В возрасте 21 дня наименьшей живой массой обладали поросята с генотипом Lbcgi/bcgi и Ladi/dcgi, а наибольшей животные с генотипом Ladik/bcgi. В 2 месяца наименьшей живой массой обладали поросята с генотипом Lbdfi/bcgi, а наибольшей – животные с генотипом Ladi/dcgi.

По системе М наименьшей живой массой при рождении и на 21-й день обладали поросята с генотипами Ma/ и Mad/.. Разница не достоверна. При этом поросята с генотипом М ./, имели самый низкий коэффициент вариации 5,1, он был ниже по сравнению с другими в 2 и более раза. Это говорит о хорошей выравненности по живой массе при рождении поросят с данным генотипом. В возрасте 2 месяцев наименьшей живой массой обладали животные с генотипом Mad/., а наиболее животные с генотипом Ma/..

Выводы

1. Учитывая, что живая масса новорожденных поросят обратно пропорциональна их количеству в гнезде и связана со способностью поросят адаптироваться к условиям окружающей среды, можно выделить желательные генотипы по некоторым группам крови свиноматок светлогорской популяции.

По системе А: генотип Aa/..

По системе Е генотипы: Eage/deg, Ebdg/deg.

По системе К: генотип Kaе/bf.

По системе L: генотип Lagi/bcgi.

По системе М: генотип M./..

Животные с такими генотипами сочетают среднее многоплодие, а полученные от них поросята имеют низкую живую массу к отъему и хорошую жизнеспособность. Животных с такими генотипами при дальнейшем разведении не следует выбраковывать.

2. Поросята, имеющие при рождении наименьшую живую массу, росли в дальнейшем также и даже быстрее, чем поросята с наибольшей живой массой. Скорость роста не зависит от живой массы при рождении. Таким образом, живая масса при рождении не влияет на живую массу в более поздние периоды роста.

Заключение

Проведенный иммуногенетический анализ светлогорской популяции мини-свиней показал широкий полиморфизм по эритроцитарным антигенам групп крови. Мини-свиньи по частоте встречаемости аллелей в отдельных локусах групп крови значительно превосходят обычных домашних свиней, а некоторые аллели даже не встречаются у продуктивных свиней.

Высокий уровень гомозиготности в популяции (0,64) говорит о накоплении рецессивных форм в гомозиготном состоянии, и о степени влияния инбридинга. Очевидно, что в популяции целесообразно проводить подбор пар для получения потомства со средним уровнем гомозиготности по локусам групп крови. Генотип светлогорских мини-свиней позволяет совершенствовать их в виде специализированных линий, отвечающих необходимым требованиям к лабораторным свиньям для всех областей медико-биологического моделирования.

Подводя итог 5-летней селекционной работе со светлогорской популяцией мини-свиней можно говорить о том, что на данном этапе получены хорошие животные со сниженной живой массой. Мини-свиньи полностью соответствуют требованиям, предъявляемым к лабораторным животным: они живут на ограниченной площади, терпимо относятся к собственным сородичам, размножаются в любые сезоны, не нуждаются в каких-то особых условиях содержания, характеризуются высокой плодовитостью и быстрым созреванием, уход за ними не сложный, а сами животные безопасны для работающих с ними персоналом. Для них характерна крепкая конституция, объемистый костяк, относительно развитая мускулатура, прямые,

развитые конечности. Голова объемистая с прямым профилем. Спина ровная, прямая. Уравновешенный темперамент и добрый нрав, животные общительны, сообразительны и любопытны. Они удобны и практичны для проведения экспериментов на крупных млекопитающих. Разведение ведется по 4 основным линиям, в которых выделены несколько ветвей и 1 семейство, в котором также имеются несколько ветвей. Селекция отцовских форм ведется по экстерьеру, стрессустойчивости, качеству приплода и воспроизводительной способности. Материнских форм – по многоплодию, молочности, крупноплодности и выравниваемости поросят в гнезде. Инбридинг допускается для закрепления желательных генотипов в степени IV-IV и меньше. Установлен генетический полиморфизм по группам крови, изучена связь фенотипа с генотипом и продуктивностью, что позволяет вести целенаправленный отбор и подбор по иммунологической совместимости. Такое разведение позволяет достичь большей однородности внутри линий и в то же время большего различия между линиями и семействами. Начата работа по изучению сочетаемости полученных линий.

Список литературы

1. *Гарай В.В., Повзикова Л.Н., Якушонок М.С.* Использование факторов групп крови для прогнозирования откор-

мочных качеств свиней / Селекция с.-х. жив-х по технологическим признакам. М., 1987. С.124-129.

2. *Герасименко В.В., Плахотников А.Г.* Репродуктивные качества трех пород в связи с особенностями генотипов по полиморфным системам крови // Тезисы докладов VI съезда украинского общества генетиков и селекционеров им.Н.И. Вавилова. Киев, 1992. Т.1. С.158.

3. *Капанадзе Г.Д., Ашуев Ж.А.* Светлогорская популяция мини-свиней // Биомедицина. № 6, 2007. С.70-80.

4. *Новиков А.А., Романенко Н.И., Семак М.С.* Иммуногенетические маркеры и их использование в селекции // Современные аспекты селекции, биотехнологии, информатики в племенном животноводстве. ВНИИплем. М., 1997. С.97-105.

5. *Тихонов В.Н., Никитин С.В.* Связь системы L групп крови с многоплодием и жизнеспособностью свиней // Докл. ВАСХНИЛ. 1988. № 10. С.41-45.

6. *Тихонов В.Н., Солoduха К.В., Бобович В.Е.* Связь с продуктивностью и хромосомная локализация системы групп крови E свиней // Межвузовский сб. научных трудов по пробл. «Свинана». М., 1988. С.20-24.

7. *Чернушенко В.* Изучение генофонда стада свиней по полиморфным структурам крови с целью использования его особенностей в селекции / Автореф. дис. канд. биол. наук. Дубровицы, 1970. С-20.

Optimization of svetlogorskaya minipig population for the biomedical researchers

N.V.Stankova, G.D.Kapanadze

The scheme of existing population improvement is described. On the basis of the selected initial livestock (by origin, efficiency and exterior) a local genofund and the Gottingen minipigs 5 specialized strains are created. Efficiency was studied by uses Goettingen male pigs in generation. The database on antigens of blood types is created.

Key words: svetlogorskaya minipigs, standartization, types of blood.



Изучение эффективности препарата «Гемостоп» в эксперименте на животных

Ю.А.Степанов¹, Н.Н.Каркищенко², М.Ф.Черкасов¹, В.Н.Каркищенко²,
Г.Д.Капанадзе², В.В.Бояринцев³, В.Б.Назаров³

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

² Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

³ НПЦ «Фармзащита» ФМБА России, Химки, Московская область

Контактная информация: e-mail: StepanovYurii@mail.ru, тел.8-918-541-84-52

В опыте на 9 животных (мини-свиньи светлогорской попляши) была изучена эффективность отечественного гемостатического препарата «Гемостоп». В эксперименте была доказана эффективность препарата в достижении окончательного гемостаза при кровотечении и ложа желчного пузыря при холецистэктомии, а так же доказана индифферентность препарата по отношению к функции печени, почек и поджелудочной железы, что свидетельствует о возможном безопасном применении данного препарата у больных с нарушением функции данных органов.

Ключевые слова: гемостоп, кровотечение, холецистэктомия.

Существующие на сегодняшний день методы гемостаза при кровотечениях из печени, в частности, ложа желчного пузыря, можно разделить на четыре группы: механические, биологические, химические, физические [3].

Старейшим механическим методом остановки кровотечения из ложа желчного пузыря, «прошедшим огонь и воду...», является тампонирование ложа желчного пузыря марлевыми салфетками. Несмотря на все недостатки данной методики, а именно – образование спаек, ослизнение тампона с формированием абсцессов и свищей брюшной полости, а также нагноение послеоперационной раны [2], методика активно применяется и пропагандируется

многими хирургами и в настоящее время как кратковременный, так и пролонгированный, до 3-6 суток, способ гемостаза ложа желчного пузыря [1, 10]. В качестве окончательного гемостаза при паренхиматозном кровотечении наиболее часто используется метод гепатопластики, заключающийся в ушивании печени П- и 8-образными швами, использовании шва Петрова, шва Drobni с фибриновыми «пуговицами», перитонизация ложа желчного пузыря, в том числе в модификации Тальмана как одиночными, так и непрерывными швами, тампонирование сальником, круглой связкой и другие методики [7, 16].

История применения биологических методов гемостаза уходит своими кор-

нями в самое начало прошлого столетия, когда Verger впервые сообщил о гемостатических свойствах фибрина. С конца 30-х начала 40-х гг. прошлого столетия препараты биологического гемостаза, а именно: фибриновая пленка, коллагеновая гемостатическая губка, гемостол, желатиновая губка, ГемоКомпакт, Тахокомб и др., – активно разрабатываются и внедряются в повседневную практику хирурга [3, 11]. Когда фибриноген в присутствии хлорида кальция смешивается с тромбином, образуется фибриномер, который под воздействием криоприсцепитата, содержащего фактор Виллебранда, немедленно превращается в прочную полимерную структуру. Данная реакция длится несколько минут, хотя по данным J.Scheele (1984), прочность фибринового сгустка продолжает нарастать в течение нескольких ближайших часов. Считается, что главным преимуществом фибринового клея является то, что процесс свёртывания при его применении не зависит от состояния системы гемостаза больного, а, значит, его применение оправдано при тяжелой коагулопатии [5]. Однако, обращают на себя внимание публикации об осложнениях, связанных с непосредственным использованием фибринового клея: Gram H.V. et al. (1991), Ochsner G.M. et al. (1993) наблюдали рецидивирующее кровотечение паренхимы печени после аппликации биологического клея, а Berguer R. et al. (1991), Spotnitz W.E. (1995) отмечали тяжёлую анафилактическую реакцию на аппликационный агент. На сегодняшний день во всех областях хирургии, особенно в гепатобилиарной, активно применяется несколько видов фибринового клея: Tissel, Tissucol, фибриновый клей, ГемоКомпакт [14]. Описаны несколько случаев применения BIOGLUE

(CRYOLIFE) при лапароскопической резекции почки [9].

Несмотря на все свои плюсы, существенными минусами препарата является необходимость удалять несущую коллагеновую поверхность после аппликации по прошествии 3-5 минут, наличие одной гемостатической стороны, т.е. невозможность гемостаза на удаляемой поверхности, а также высокая стоимость препарата, что затрудняет его использование при малоинвазивных вмешательствах и необходимости укрытия значительных по площади поверхностей [13].

Из группы химических агентов, получивших название адгезивы, наиболее широко применяются цианакрилатные клеи. Наиболее интенсивный период внедрения адгезивов в хирургическую практику, в том числе и в гепатобилиарную хирургию пришелся на конец 60-х начало 70-х годов XX века. Одним из главных недостатков клеевых композиций является неспособность осуществлять гемостаз на влажных поверхностях, что требует тщательного осушения поверхности перед их применением [17].

Способы физического гемостаза паренхиматозных кровотечений, а именно: воздействие горячего пара, воздуха, – имеют давнюю историю. Однако, с развитием более совершенной техники в своем прежнем виде данные методы «канули в Лету», применяясь в настоящее время на качественно новом уровне [13].

Большую роль в развитии высокочастотной электрохирургии в медицине сыграло внедрение в практику хирурга лапароскопических технологий и манипуляций из мини-доступа [17]. Современные высокочастотные электрохирургические генераторы работают в моно- или биполярном режимах в частотном диапазоне 350-1500 кГц.

При всех преимуществах применения высокочастотной энергии нельзя не упомянуть об особенностях, а также потенциальных проблемах последней. Ожоги печени и ложа желчного пузыря, как следствие длительной электроэксии, обнаруживаются у 6,74% больных после ЛХЭ, что проявляется в стойком повышении активности трансаминаз. Сохранение высокого уровня этих показателей в раннем послеоперационном периоде свидетельствует о значительном повреждении печеночной паренхимы. Изменение коэффициента де Ритиса в сторону повышения АЛТ свидетельствует о наличии некробиотических процессов в печёночной паренхиме. Немаловажную роль в развитии послеоперационных осложнений играет образующийся при коагуляции некротический струп толщиной до 8 мм, выступающий субстратом для инфицирования и вторичного кровотечения [12]. Также, высокой степенью риска является повреждения внутри- и внепечёночных желчных протоков после применения электрокоагуляции, особенно при ЛХЭ, что, зачастую, является причиной конверсии [22]. Данные повреждения, по мнению И.В. Фёдорова, (1997) включают в себя как прямое ранение протоков при рассечении тканей, так и опосредованное повреждение их через клипсы, инструменты и ишемию желчных протоков, как следствие деваскуляризации. Помимо вышесказанного, применение электрохирургического инструментария недопустимо у пациентов с имплантированными электродами, стимуляторами, так как может вызвать нарушение их работы и даже выход из строя [8].

Целью данной работы было изучить эффективность нового отечественного

гемостатического препарата «Гемостоп» в эксперименте.

Материалы и методы

Эксперимент проводился на 9 мини-свиньях (самцы) светлогорской популяции в возрасте 6 месяцев с массой 20-22 кг в НЦБМТ РАМН, в специально оборудованных операционных в асептических условиях на специальном V-образном столе-желобе, изготовленного из дюраля, отличающийся легкостью, прочностью и устойчивостью к агрессивным средам и дезинфицирующим растворам. Животных оперировали в положении лежа на спине с фиксацией всех четырех конечностей.

До операции всем животным производилось взятие крови из краниальной полой вены. Этот метод был предложен сотрудниками Института цитологии и генетики СО АН СССР (Новосибирск) [4]. У мини-свиней краниальная полая вена находится на уровне первого ребра под трахеей, дорзально от рукоятки грудной кости [6]. Свиньи фиксировались в положении на спине на V-образном столе желобе. После этого прощупывался краниальный выступ рукоятки грудной кости. Операционное поле обрабатывалось 70% этанолом. Шприц вводился в область яремного желоба на 0,5-1,0 см влево или вправо от сагиттальной линии и на 1-2 см впереди от краниального выступа рукоятки грудной кости, предварительно оттянув поршень шприца [6].

Все показатели крови рассчитывались на автоматическом анализаторе Chem Well «+» (производство США).

Под 5% раствором тиопентала-натрия в физиологическом растворе внутривенно, после обработки операционного поля, всем мини-свиньям выполнялась лапа-

ротомия, выделялся желчный пузырь и производилась типичная холецистэктомия от шейки с раздельной перевязкой пузырной артерии и пузырного протока. При выделении желчного пузыря из ложа не производилась его коагуляция а с целью гемостаза использовался новый отечественный препарат «Гемостоп».

Препарат «Гемостоп» разработан и выпускается НПЦ «Фармзащита» ФМБА России. «Гемостоп» является производным цеолита NaCaAX, обладающего высокой абсорбирующей способностью (рис. 1). Гемостатический эф-



фект основан на быстром влагопоглощении. При контакте с кровью поглощается большой объем воды относительно массы и объема препарата, что приводит к локальной концентрации клеточных и крупных белковых компонентов крови, в т.ч. факторов свертывания. Это в свою очередь индуцирует формирование кровяного сгустка. Кроме того, поверхностный потенциал цеолита способствует активации XII фактора свертываемости крови и тромбоцитов. «Гемостоп» также содержит кальций, который является кофактором во многих звеньях коагуляционного каскада. При использовании изделие легко заполняет полость раны, не фиксируется к тканям, не всасывается, после применения легко удаляется меха-

ническим путем.

Порошок в количестве 20-25 г засыпали в ложе желчного пузыря, тампонируют марлевой салфеткой и через 5 минут удаляли тампон (рис. 2) и вымыва-



ли остатки порошка для контроля гемостаза. Гемостаз считался достигнутым, когда после удаления остатков порошка не наблюдалось видимого паренхиматозного кровотечения. Отметим, что во всех случаях после применения препарата, дополнительного гемостаза не понадобилось. По завершении операции брюшная полость ушивалась послойно наглухо. Кровопотеря во время операции составляла 150-200 мл.

Результаты и их обсуждение

Животные выводились из эксперимента на первые (3 свиньи), пятые (3 свиньи) и седьмые (3 свиньи) сутки после оперативного вмешательства путем передозировки 5% раствора тиопенталата натрия введенного внутривенно.

До операции у всех мини-свиней был взят общий анализ крови (ОАК) и биохимический анализ крови (глюкоза, амилаза, мочевины, креатинин, АСТ, АЛТ), данные представлены в таблице 1.

Перед выводом животных из эксперимента всем животным брали ОАК и

Таблица 1

Фоновые показатели крови экспериментальных животных

Показатель	Полученный показатель	Норма
Нб (г/л)	159,4±4,48	160,0-168
Эритроциты (1012/л)	6,5±1,72	5-8
Лейкоциты (109/л)	16,7±2,94	15-20
Глюкоза (ммоль/л)	5,1±1,65	3,3-8,8
Амилаза (Ед/л)	1246±578	420-2200
Мочевина (ммоль/л)	18,7±8,42	8,4-34,4
Креатинин (мкмоль/л)	85,8±36,4	50-137
АСТ (Ед/л)	74,8±24,8	42-142
АЛТ (Ед/л)	86,7±28,3	45-145

биохимию (глюкоза, амилаза, мочеви-на, креатинин, АСТ, АЛТ). Затем путем передозировки 5% раствора тиопенталана натрия животных выводили из экспери-мента. На вскрытии контроль гемоста-за оценивался наличием или отсутстви-ем крови в брюшной полости, а также

В табл. 2 представлены данные ОАК и биохимические данные исходного уров-ня и в динамике.

На 1-е сутки после операции по срав-нению с исходным уровнем отмеча-ется снижение Нб на 17% и эритроцитов на 37%, что характеризует интраопера-

Таблица 2

Показатели крови животных на разных этапах исследования

Показатель	Фон	1-е сутки	5-е сутки	7-е сутки
Нб (г/л)	159,4±4,48	132±12,6	140,4±7,5	149,3±5,8
Эритроциты (1012/л)	6,5±1,72	4,1±1,1	5,1±0,86	5,6±1,2
Лейкоциты (109/л)	16,7±2,94	27,6±3,1	17,2±1,3	15,3±1,9
Глюкоза (ммоль/л)	5,1±1,65	4,2±2,5	4,4±1,6	4,1±1,9
Амилаза (Ед/л)	1246±578	1424±603	1304±524	1284±517
Мочевина (ммоль/л)	18,7±8,42	20,8±9,3	20,2±5,1	18,3±6,2
Креатинин (мкмоль/л)	85,8±36,4	94,6±41,1	87,4±38,2	83,2±34,6
АСТ (Ед/л)	74,8±24,8	99,6±29,4	82,1±27,8	70,6±26,6
АЛТ (Ед/л)	86,7±28,3	104,8±37,4	75,2±26,5	76,1±29,7

оценивалось общее влияние препарата на окружающие органы путем наличия или отсутствия макроскопических изме-нений в близлежащих органах и тканях.

ционную кровопотерю, а в дальнейшем на 5-е и 7-е сутки отмечается стабили-зация данных показателей со снижени-ем Нб на 6,7% и эритроцитов на 14%

от исходного уровня, что косвенно доказывает отсутствие внутрибрюшного кровотечения, наглядным доказательством чего стало отсутствие лизированной крови в брюшной полости при выводе животных из эксперимента и только в одном случае, при выводе животного на 5-е сутки, в брюшной полости было обнаружено 50 мл лизированной крови. При ревизии, у всех животных на 1-е сутки никаких макроскопических изменений в брюшной полости выявлено не было. На 5-е сутки отмечалось наличие несформированного рыхлого воспалительного инфильтрата в подпеченочном пространстве, что характерно для любого постоперативного процесса в данной области, других макроскопических изменений со стороны внутренних органов выявлено не было. На 7-е сутки отмечалось наличие небольшого инфильтрата в стадии рассасывания в зоне оперативного вмешательства. При этом в 1-е сутки после операции в ОАК отмечались воспалительные изменения в виде лейкоцитоза до $27,6 \pm 3,1 \times 10^9/\text{л}$, что нами было расценено как общий ответ организма на оперативное вмешательство, который в последующие дни снижался к 5-м суткам до нормальных значений – $17,2 \pm 1,3 \times 10^9/\text{л}$.

Увеличение трансаминаз: АСТ на 33% до $99,6 \pm 29,4$ Ед/л и АЛТ на 21% до $104,8 \pm 37,4$ Ед/л по сравнению с исходным уровнем на 1-е сутки после операции, что не выходило за пределы нормальных значений (АСТ – 42-142 Ед/л, АЛТ – 45-145 Ед/л), а так же дальнейшее снижение данных показателей до исходного уровня к 5-ым суткам может характеризоваться как нейтральное действие препарата на функцию печени, а начальный подъем расценен как ответ на интраоперационную травму.

С целью оценки действия препарата на функцию почек в послеоперационном периоде нами были проанализированы показатели мочевины и креатинина, которые по сравнению с исходным фоном увеличились через сутки на 11% мочевины до $20,8 \pm 9,3$ ммоль/л и на 10% креатинин до $94,6 \pm 41,1$ мкмоль/л и снижаясь до исходного уровня на 5-е и 7-е сутки, оставаясь при этом в пределах нормальных границ (мочевина – 8,4-34,4 ммоль/л, креатинин – 50-137 мкмоль/л), что свидетельствует об интактности препарата «Гемостоп» на функцию почек.

Учитывая область оперативного вмешательства – гепато-биллиарная зона, непосредственную близость поджелудочной железы, с целью оценки действия препарата на экзо- и эндокринную функцию последней, до и после операции мы оценивали показатели глюкозы и амилазы крови которые на имели достоверных отличий в до- и послеоперационном периодах, свидетельствующие о метаболической нейтральности исследуемого препарата на поджелудочную железу.

Выводы

1. Гемостоп – первый отечественный препарат на основе цеолитов, позволяющий добиться окончательного гемостаза при кровотечениях из паренхиматозных органов, в частности, при кровотечении из ложа желчного пузыря при холецистэктомии.

2. В ходе исследования гемостоп показал свою интактность по отношению к функции печени, почек и поджелудочной железе, что свидетельствует о возможности его безопасного применения у лиц с нарушениями функции данных органов.

3. При применении гемостопа не было отмечено пирогенных, аллергических и воспалительных реакций у подопытных животных, что свидетельствует о безопасности применения препарата.

Список литературы

1. **Борисов А.Е., Митин С.Е., Шолков СИ.** Использование тахокомба в нестандартных ситуациях // Анн. хирург. гепатол. – 2007. – Т.12. – №3. – С.48.

2. **Вишневский В.А., Кубышкин В.А., Чжао А.В.** Операции на печени. Руководство для хирургов. – М.: «МИКЛОШ», 2003. – 156 с.

3. **Горский В.А., Шуркалин Б.К., Фаллер А.П.** Окончательный гемостаз при вмешательствах на паренхиматозных органах // Анн. хирург. гепатол. – 2007. – Т.12. – № 3. – С.253.

4. **Гродецка Н.С.** Сравнительная оценка атеро- и геронтогенного действия фторида натрия на белых крысах и миниатюрных свиньях светлогорской популяции // Материалы Всесоюзной конференции. – Москва. – 1980. – С.48-49.

5. **Ермолов А.С., Абакумов М.М., Владимирова Е.С.** Травма печени. – М.: Медицина, 2003. – 192с.

6. **Осипов В.В.** Опыт моделирования алкоголя на мини-свиньях // Фармакология и токсикология. – 1988. – №3. – С.34-38.

7. **Пауткин Ю.Ф., Климов А.Е.** Хирургия желчных путей: Руководство для врачей. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 368с.

8. **Пряхин А.Н., Ревель-Муроз Ж.А., Сазанов В.В.** Обработка ложа желчного пузыря с помощью диодного лазера после лапароскопической хо-

лецистэктомии // Хирургия деструктивного холецистита. Материалы межрегиональной научно-практической конференции. – Екатеринбург, 20 октября 2002. – С.75-76.

9. **Пучков К.В., Винаров А.З., Савельев С.Н., Балаклеицев И.И., Курчатов О.П.** Первый опыт применения клея BIOGLUE (CRYOLIFE) при лапароскопической резекции почки // Московский хирургический журнал. – 2009. – № 4(8). – С.16-20.

10. **Сажин В.П., Федоров А.В.** Лапароскопическая хирургия. – М.: Реком., 1999. – 178 с.

11. **Ткачѳв П.В., Акоюн А.А.** Возможности гемостаза ложа желчного пузыря при экстренных лапароскопических холецистэктомиях // XXX Итоговая конференция общества молодых ученых. Труды конференции. М.: МГМСУ, 2008. – С.332-334.

12. **Федоров И.В., Никитин А.Т.** Клиническая электрохирургия. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997. – 88с.

13. **Фомин В.С.** Дополнительный гемостаз ложа желчного пузыря аппликацией биоконпозиции «Тромбокол»: Диссертация на соискание ученой степени канд. мед. наук. – М.: 2008 – 151с.

14. **Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Пастухов Д.В.** Влияние фибринового клея на ход посттравматической регенерации печени // Анн. хирург. гепатол. – 2006. – Т.11. – № 3. – С.61.

15. **Berguer R., Staerkel R.L., Voore E.E.** Warning: fatal reaction to the use of fibrin glue in deep hepatic wounds; case reports // J.Trauma. 1991. – Vol.31. – № 3. – P.408-411.

16. **Demirel A.H., Basar O.Z., Ongoren A.U. et al.** Effects of primary suture and fibrin sealant on hemostasis and liver regeneration in an experimental liver

injury // World J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 14. – №1. – P. 81-84.

17. *Ji W., Li L., Wang Z. M. et al.* A randomized controlled trial of laparoscopic versus open cholecystectomy in patients with cirrhotic portal hypertension // World J. Gastroenterol. – 2005. – Vol.11. – № 16. – P.2513-2517.

18. *Kram H.B., Shoemaker W.C., Clark S.R. et al.* Spraying of aerosolized fibrin glue in the treatment of nonsuturable hemorrhage // Am.Surg. – 1991. – Vol.57. – № 6. – P.381-384.

19. *Tzovaras G., Dervenis C.* Vascular injuries in laparoscopic cholecystectomy: An underestimated problem // Dig. Surg. – 2006. – Vol.23. – № 5-6. – P.370-374.

To study the efficacy of the drug «Gemostop» in experiment on animals

**Y.A.Stepanov, N.N.Karkischenko, M.F.Cherkasov, V.N.Karkischenko,
G.D.Kapanadze**

The effectiveness of domestic haemostatic drug «Gemostop» were studied in the experiment on 9 males of mini-pigs. In the experiment proved the effectiveness of the drug to achieve final hemostasis in bleeding sludge gallbladder at cholecystectomy, as well as proof of indifference of the drug in relation to liver function, kidney and pancreas, indicating a possible safe use of this drug in patients with impaired function of the data bodies.

Key words: gemostop, bleeding, cholecystectomy.



Особенности накопления и распределения экотоксикантов в донных отложениях и водорослях

Е.А.Галатова¹, А.Ю.Шестаков², Г.Д.Капанадзе³

¹ Уральская государственная академия ветеринарной медицины, Троицк, Челябинская обл.

² РГАУ–МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва

³ Научный Центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

В работе представлены данные по особенностям накопления и распределения тяжелых металлов в донных отложениях и водорослях реки Уй, которые являются важнейшим аспектом изучения экологического состояния водных объектов и наиболее адекватно отражающих их современное состояние и содержащих информацию о загрязнении водотока на данной территории.

Ключевые слова: тяжелые металлы, водоросли, донные отложения.

Важнейшим фактором, определяющим экологический статус водного объекта, являются донные отложения и водоросли. Исследование донных отложений является важнейшим аспектом изучения экологического состояния водных объектов, наиболее адекватно отражающих их современное состояние и содержащих информацию о загрязнении водотока на данной территории [3, 8, 11, 12].

Водоросли могут отражать кумулятивный эффект загрязняющих веществ. Особо опасными оказываются загрязнения тяжелыми металлами – поллютантами со множественными путями их поступления в гидросферу.

Изучение миграции химических элементов по пищевым цепям водных экосистем представляет не только научный

интерес, но имеет и большое практическое значение. Несмотря на очевидную важность, этот вопрос остается одним из самых малоисследованных в биогеохимии химических элементов.

Материалы и методы

Нами изучены содержание тяжелых металлов в донных отложениях речной экосистемы реки Уй. В работе мы использовали наиболее распространенный метод – сравнение полученных массовых концентраций тяжелых металлов со значением величины кларка, фоновыми концентрациями, официально установленными допустимыми уровнями или другими, ранее полученными натуральными данными [1, 7, 10]. Уровнем за-

грязненности в этом методе служит коэффициент обогащения (КО), показывающий, во сколько раз содержание тяжелых металлов в донных отложениях превышает их кларковые или фоновые значения [2, 4, 6].

Результаты и их обсуждение

Анализ данных (табл. 1, 2) показал, что содержание марганца в донных отложениях составило $176,52 \pm 8,06$ мг/кг, что превышает кларковые значения данного элемента в литосфере в 160,47 раза.

Сравнение полученных результатов с допустимыми значениями марганца для пресноводных донных отложений, не подверженных антропогенному загрязнению, показали превышение в 235,36 раза.

Можно считать, что одним из факторов, повлиявших на значительное накопление марганца в донных отложениях, является установленное нами смещение рН воды в реке Уй в кислую сторону (рН

6,5) на фоне повышения концентрации азотсодержащих ионов (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+).

Кислая реакция среды и избыток органических соединений изменяют окислительно-восстановительные условия природных вод и, тем самым, снижают мобильность марганца в донных отложениях. Вероятно, по этой же причине достаточно высоким является коэффициент обогащения донных осадков железом, содержание которого в донных отложениях составило $516,9 \pm 2,59$ мг/кг. Расчет коэффициента обогащения железом по кларку литосферы составил 11,1, а по пресноводным донным отложениям, не подверженным антропогенному загрязнению – 11,89.

Создавшиеся условия в речной экосистеме, тестируемые нами по активной реакции среды воды реки Уй, создают благоприятные условия для мобильности кадмия. Несмотря на хорошую мобильность кадмия, содержание его оказалось достоверно высоким – 2,0. Коэф-

Таблица 1

Содержание тяжелых металлов в донных отложениях, мг/кг сухого вещества ($\bar{X} \pm S_x$, n=5)

Химические элементы	Содержание в донных отложениях	Кларки литосферы*	Пресноводные ДО**
Fe	$516,90 \pm 2,59$	46,5	43,5
Cu	$6,65 \pm 0,59$	47	43
Zn	$44,18 \pm 0,99$	83	110
Co	$2,67 \pm 0,09$	18	–
Pb	$3,90 \pm 0,19$	16	28
Mn	$176,52 \pm 8,06$	1,10	0,75
Cd	$0,26 \pm 0,003$	0,13	0,35
Ni	$9,29 \pm 0,48$	58	55

Примечание:

* – кларки литосферы (А.П.Виноградов, 1967)

** – пресноводные донные отложения (U.Forstner, 1977)

Коэффициент обогащения по кларку литосферы и пресноводным донным отложениям

Химический элемент	КО ₁ [*]	КО ₂ ^{**}
Fe	11,11	11,18
Cu	0,14	0,15
Zn	0,53	0,40
Co	0,14	–
Pb	0,24	0,13
Mn	160,47	235,36
Cd	2,0	0,74
Ni	0,16	0,16

Примечание:

* – КО, рассчитанные по кларкам литосферы (А.П.Виноградов, 1967)

** – КО, рассчитанные по пресноводным донным отложениям, не подверженным антропогенному воздействию (U.Forstner, 1977)

фициент оказался несколько ниже при сравнении с нормативными данными для пресноводных донных отложений (0,74).

Коэффициенты обогащения в донных отложениях цинком и кобальтом, рассчитанные по кларку литосферы и допустимым уровням содержания этого элемента в пресноводных донных отложениях, составили 0,53; 0,14 и 0,40, соответственно. По свинцу, никелю и меди коэффициенты обогащения составили 0,24; 0,16; 0,14 и 0,13; 0,16; 0,15 – по допустимым уровням в пресноводных донных отложениях соответственно, что свидетельствует о хорошей мобильности данных элементов.

Водоросли-мониторы позволяют получать интегральную картину загрязнения водных экосистем, что особенно важно при осуществлении краткосрочных прогнозов при дискретном загрязнении водоема. При этом очень важно, что водоросли характеризуются высокой способностью к биоаккумуляции тяжелых металлов, что позволяет увеличить

точность химических анализов, используя их в качестве мониторов.

В настоящее время в составе альгофлоры водоемов Челябинской области зарегистрированы 1375 видов водорослей. В качестве материала для исследований нами были выбраны сине-зеленые водоросли [5, 11]. Данные, полученные при изучении элементного состава водорослей, представлены в табл. 3. В пробах водорослей содержание тяжелых металлов подчиняется следующей закономерности: Cd < Cu < Pb < Co < Ni < Zn < Fe < Cr < Mn.

Превышение допустимого содержания было установлено для хрома при коэффициенте биологического поглощения 1,6 и для марганца, коэффициент биологического поглощения которого составил 2,1. Содержание никеля при нормативном уровне 1-3 мг/кг составило 1,37±0,06 мг/кг.

Данные свидетельствуют, что при миграции из воды в гидробионты такие элементы, как Fe, Si, Zn, «теряются»

Содержание тяжелых металлов в водорослях, мг/кг сухого вещества ($\bar{X} \pm S_x$, n=5)

Химический элемент	Содержание в водорослях (летний сезон)	Нормативы для гидропонных кормов и водорослей*	Коэффициент биологического поглощения (КП)
Fe	3,65±0,169	100 – 200	0,018
Cu	0,55±0,02	до 30	0,018
Zn	1,71±0,03	50 – 100	0,017
Co	1,21±0,03	1 – 3	0,40
Pb	1,01±0,02	3 – 5	0,202
Mn	40,07±0,03	10 – 19	2,108
Cd	0,154±0,003	до 0,4	0,385
Ni	1,37±0,06	1 – 3	0,456
Cr	7,99±0,233	до 5	1,598

Примечание:

* – В.Н.Голубев, Т.Н.Назаренко (2001)

в большей степени, чем Mn, Cr, Ni, Pb, Cd. Это подтверждается и при сопоставлении с данными, полученными нами при изучении содержания тяжелых металлов в речной воде (табл. 3).

Выводы

Представляется возможным сделать вывод, что с повышением трофического уровня содержание в звеньях пищевой цепи рассмотренных микроэлементов закономерно должно понижаться, причем, для элементов с близкими физико-химическими свойствами степень этого понижения должна быть пропорциональна их концентрации в речной воде.

Список литературы

1. **Басс-Бекинг Л.Т.М.** Пределы колебаний рН и окислительно-восстановительных потенциалов природной среды // Геохимия литогенеза. – М.:

Изд-во иностр. лит., 1963. – С. 11-84.

2. **Белоконь В.Н.** Содержание тяжелых металлов, органических веществ и соединений биогенных элементов в донных отложения Дуная // Вод. ресурсы. – 1993. – Т. 20. – С.469-478.

3. **Васильева О.Ю.** Влияние бактериального фактора на переход тяжелых металлов из донных отложений в воду // Вопросы методологии гидрохимических исследований в условиях антропогенного влияния: М-лы XXVII Всесоюз. гидрохим. совещ. – Л.: Гидрометеиздат, 1979. – Ч.1. – С. 17.

4. **Виноградов А.П.** Химический элементарный состав планктона Черного, Азовского и Каспийского морей // Биохимия морских организмов. – Киев, 1967. – С. 70-83.

5. **Вышемирский В.С.** Органическое вещество в Мировом океане. – Новосибирск: Изд-во НГУ, 1986. – С. 73-89.

6. **Голубев Н.Н.** Обработка рыбы и морепродуктов: Учебник. – М. Ин-т

развития проф. образования. 2001. – С. 27-29.

7. *Линник П.Н.* Донные отложения водоёмов как потенциальный источник вторичного загрязнения водной среды соединениями тяжёлых металлов // Гидробиологический журнал. – 1999. – Т. 35. – № 2. – С. 97-107.

8. *Моисеенко Т.И.* Рассеянные элементы в поверхностных водах суши. – М.: Наука, 2006. – С. 115-217.

9. *Морозов Н.П.* Микроэлементы в промышленной ихтиофауне мирового океана. – М., 1986. – С. 160.

10. Фоновое содержание микроэлементов в природных средах (по мировым данным) // Мониторинг фонового загрязнения природных сред. – Л.: Гидрометеопиздат, 1989. – Вып. 5. – С. 4-30.

11. *Трапезников А.В.* Радиоэкология пресноводных экосистем (на примере Уральского региона): Автореф. дис.... докт. биол. наук. – Екатеринбург, 2001. – 48 с.

12. *Трапезников А.В.* Радиоэкологическая ситуация в Уральском регионе // Научные основы профилактики и лечения болезней животных. – Екатеринбург, 2005. – С. 563-566.

The peculiarities of accumulation and distribution of heavy metals in bottom sediments and waterweeds

Е.А.Galatova, А.Ju.Shestakov, G.D.Kapanadze, E.L.Matveenko

The data on the peculiarities of accumulation and distribution of heavy metals in bottom sediments and waterweeds are given in the article. These data are the important aspect of investigation of ecological condition of water which more adequately reflects its present – day condition and contains the information about the poll

Key words: heavy metals, algae, sediments.



Материалы II Конгресса Международного общества клинических фармакологов и фармацевтов стран СНГ 20-21 октября 2010 года, Москва (Краткие сообщения)

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

Разработка новых высоко эффективных и безопасных лекарств является основной задачей современной фармакологии. Для этого необходимо проведение не только исследований специфической фармакологической активности различных соединений, но и токсикологические исследования, исследования на мутагенность, тератогенность. Важной задачей фармакологии является также создание адекватных экспериментальных моделей для изучения фармакологической активности новых соединений. В коротких сообщениях представлены результаты экспериментального изучения фармакологических эффектов новых иммуномодуляторов, гепатопротекторов, препаратов для лечения нарушения мозгового кровообращения, артериальной гипертензии, патологий желудочно-кишечного тракта и других. Некоторые исследования посвящены разработке моделей патологических состояний для проведения фармакологических исследований.

Ключевые слова: экспериментальная фармакология, фармакологические модели, токсичность.

Влияние «Силативита» на локомоторную активность и отдельные показатели крови у экспериментальных животных при термическом ожоге

В.В.Алтухов¹, Л.П.Ларионов², Т.Г.Хонина³

¹ – Свердловский областной медицинский колледж, Екатеринбург

² – Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

³ – Институт органического синтеза УрО РАН, Екатеринбург

Термические ожоги на сегодняшний день занимают II-III место в структуре всего травматизма в целом. На долю ожогов II-IIIа степени тяжести, в зависимости от возраста, приходится от 20 до 50 % от всех ожогов [3]. Лечение данных ожогов, как правило, проводится с использованием различных лекарственных композиций на основе транскутанных

проводников. Терапевтическая активность лекарственных препаратов, применяемых в форме мазей, в значительной мере зависит от свойств носителя лекарственных веществ. Природа мазевой основы оказывает большое влияние на лекарственное вещество, введенное в нее, усиливая или ослабляя его фармакологическое действие. От ее состава за-

висит отсутствие или наличие осмотического эффекта [1]. Различные мазевые основы оказывают не одинаковое влияние на проницаемость кожи [1, 3, 4].

В Институте органического синтеза УрО РАН, Т.Г.Хониной, синтезирована мягкая лекарственная основа, – кремнийорганический глицерогидрогель, получивший в последующем название «Силативит». Данная основа, на основании ранее проведенных исследований, не обладает токсичным действием.

Цель. Выявить особенности влияние «Силативита» на локомоторную активность и интегральные показатели периферической крови у экспериментальных животных при термическом ожоге.

Материалы и методы

В эксперименте были использованы белые крысы 2-х месячного возраста, обоих полов, популяции Wistar. Возраст был известен, так как их маркировали с момента рождения. Исследование проводили в весенний период.

Термический ожог был создан с использованием металлической пластины, размером 20 × 60 мм, разогретой до температуры 100-98°C. Время воздействия пластины 40 сек., что ориентировочно могло привести к термическому ожогу II-IIIа степени тяжести. До осуществления ожога предварительно определили ориентировочно-исследовательские реакции животных в «открытом поле» и показатели общего анализа крови. При проведении исследований в «открытом поле» локомоторной активности, регистрировали следующие параметры: время ухода с центрального круга (секундах), количество пересеченных квадратов арены (горизонтальная активность), количество вставаний на задние лапы

(вертикальная активность), груминг (умывание) и отслеживание отверстий в поле (нор). Экспозиция эксперимента 3 минуты, с повторными регистрациями данных показателей через 30, 60, 90, 120 и 150 минут. Ориентировочно-исследовательские показатели определяли после создания ожога и на пятые сутки, на фоне применения «Силативита» и без него.

Для исследования интегральных показателей крови был использован гематологический автоматический анализатор (Advia-60). Забор крови осуществляли из хвоста в специальные разовые пробирки, используемые в практическом здравоохранении. Данные исследования проводили до ожога, и после создания ожога у опытной и контрольной группы животных.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований нами выявлено следующее. При исходной регистрации, до ожога, все показатели локомоторной активности, как в опытной, так и в контрольной группе обеих полов, особо не отличались. Через 90, 120 и 150 минут время ухода с круга увеличилось в среднем до 40 секунд. В начале эксперимента этот показатель в среднем составлял до 20 секунд. На наш взгляд это обусловлено адаптацией животных к условиям «открытого поля». На второй день, после создания ожога, все ориентировочно-исследовательские показатели животных, особенно в начале эксперимента, на 3 и 30 минуте, резко изменились. Уход с круга сократился в среднем до 10 секунд, увеличилась горизонтальная и вертикальная активность. На пятый день после ожога, в опытной группе, на фоне примене-

ния «Силативита» на 3, 30 и последующих минутах отмечается пусть не значительное, но снижение активности. В контрольной группе, на пятые сутки после ожога, особых изменений со стороны данных показателей, по отношению ко вторым суткам после ожога, не произошло. Отмечалась прежняя активность в период третьей и тридцатой минуты.

Из интегральных показателей крови, на наш взгляд, наибольшего внимания заслуживают такие показатели, как: общая концентрация гемоглобина, гематокрит, количество эритроцитов, лейкоцитов и лимфоцитов. Результаты исследований представлены в таблице.

Интерпретируя показатели крови, на основании полученных данных, можно отметить пусть не значительную, но положительную динамику на фоне применения «Силативита».

На наш взгляд, положительная динамика полученных показателей, обусловлена содержанием кремния, который является эссенциальным микроэлементом, принимающим активное участие в метаболических процессах организма, который и составляет основу «Силативита».

Таблица

Отдельные показатели общего анализа крови животных (ОАК, самцы)

Этапы эксперимента		Показатели крови				
		HGB, г/л	RBC, $10^{12}/л$	HCT	WBC, $10^9/л$	LYM, %
ОАК до ожога		149,6±10,50	8,28±0,88	454,6±36,9	8,0±1,77	69,9±4,99
ОАК через 1 сутки после ожога		148,0±5,11	7,94±0,31	443,8±14,5	9,86±0,97	60,7±3,72
На 5 суток после ожога	«Силативит»	149,87±3,55	8,27±0,18	473,7±11,4	13,26±2,69	76,8±3,11
	Контроль (без основы)	148,61±5,20	8,19±0,52	446,8±14,4	13,54±2,56	63,1±4,94

Выводы

На основании полученных данных эксперимента, можно сделать следующее заключение: в первые сутки после ожога поведенческие реакции животных изменяются, активность их падает, они становятся малоподвижными, проявляют малый интерес к окружающей их обстановке. На пятые сутки, после ожога, на фоне применения «Силативита» отмечается большая активность животных, по отношению к контрольной груп-

Список литературы

1. *Алексеев К.В.* Изучение осмотической активности гелей на основе редкочешитого акрилового сополимера // Фармация. – 1989. – Т.38, № 1. – С. 22-25.
2. *Багирова В.Л.* Мази. Современный взгляд на лекарственную форму // Фармация. – 2002. – № 2. – С. 24-26.
3. *Вихрев Б.С.* Ожоги. Ленинград, 1986. – С. 270.
4. *Колпаков Ф.И.* Проницаемость кожи. – М.: Медицина, 1973. – С. 208.

Влияние препарата «Профеталь» на мозговой кровоток

А.В.Арльт, М.С.Сулейманов, М.Н.Ивашев, В.В.Юшков, Г.В.Масликова

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Настоящая работа посвящена изучению цереброваскулярных свойств препарата «Профеталь». Это препарат природного происхождения с широким спектром регуляторного действия. Свойства α -фетопротейна (активного вещества препарата) обусловлены его сродством к некоторым ключевым регуляторным молекулам в организме (в т.ч. стероидные гормоны, простагландины, полиненасыщенные жирные кислоты, белки экстрацеллюлярного матрикса). α -фетопротейн (АФП) обладает антиэстрогенными и иммуносупрессорными свойствами. В качестве транспортного белка переносит билирубин, жирные кислоты, различные лекарственные препараты. Кроме того, фармакодинамика АФП связана с осуществлением комплексной коррекции клеточного деления, при этом АФП запускает механизмы саморазрушения опухоли посредством апоптоза, снимает феномен «экранирования опухоли», связывает химиопрепараты и транспортирует их непосредственно в опухолевую ткань, активирует клеточное звено противоопухолевого иммунитета, генерирует и влияет на созревание дендритных клеток, а так же проявляет гепатопротекторные, мембраностабилизирующие, противовоспалительные и десенсебилизирующие свойства [1]. При применении в составе комплексной терапии хронических окклюзионных заболеваний сосудов α -фетопротейн способствует улуч-

шению внутрисосудистой и тканевой гемоперфузии и стимуляции заживления трофических язв. Поскольку эффективность препарата обусловлена тем, что α -фетопротейн является индуктором эндогенных простагландинов E_1 и E_2 , снимающих спазмы сосудов и блокирующих развитие аутоиммунных реакций, возникла потребность изучить действие профетали на мозговую гемодинамику.

Цель. Проанализировать влияние препарата «Профеталь» на мозговой кровоток и устойчивость животных к нормобарической гипоксии с гиперкапнией.

Материалы и методы

Острые опыты проведены на 16 белых крысах, наркотизированных хлоралгидратом (300 мг/кг, внутривентриально) и 20 интактных белых мышах. Объемную скорость мозгового кровотока (ОСМК) регистрировали методом водородного клиренса с помощью платинового электрода, расположенного на поверхности сагиттального синуса (в области стока синусов). Системное артериальное давление (САД) измеряли ртутным манометром в области правой сонной артерии. Для создания патологического фона, на котором изучалась эффективность исследуемого соединения, использовалась модель нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Эта модель является наиболее простым методом оценки антиги-

поксической активности. Белых мышей одинакового веса (разброс не более 2 г на группу) помещали в герметически закрытые банки 750 см³ (крышки смазывали вазелином). Гипоксия – один из универсальных механизмов действия различных патогенных факторов, играющих в той или иной мере важную роль практически при всех патологических состояниях. Отличительной особенностью острой гипоксии является доминирование в процессе ее развития прогрессирующего нарушения функций центральной нервной системы. Острая гипоксия, возникшая в организме, означает, прежде всего, кислородное голодание тканей головного мозга – коры головного мозга, мозжечка, высших подкорковых центров и др. При сравнительно небольшом снижении процента насыщения артериальной крови кислородом (до 85-89% при 96% в норме) происходит нарушение наиболее тонко дифференцированной аналитико-синтетической функции коры головного мозга с ослаблением остроты восприятия изменений внешней среды, критической оценки действительности и снижением быстроты и правильности ответа на эти изменения. В дальнейшем при прогрессировании степени кислородной недостаточности наблюдается ослабление тормозного влияния коры головного мозга на подкорковые центры с возбуждением их. Животные, поглощая кислород из замкнутого пространства вследствие дыхания, вызывают развитие его дефицита – гипоксическую гипоксию, что позволяет оценивать исследуемые вещества по интегральным показателям летальности за определенное время наблюдения и устойчивости к дефициту кислорода (максимальной продолжительности жизни). Препарат «Профеталь» в дозе 1,0

и 2,0 мкг/кг вводили внутримышечно. Контрольной группе животных вводили эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

Результаты и их обсуждение

В контрольных опытах (8 крыс) с 5 по 45 мин эксперимента значимых изменений ОСМК не выявлено. С 60-й по 120 мин эксперимента наблюдали незначительное снижение ОСМК (в среднем на $7,4 \pm 1,3$ %), которое стабилизировалось к 120 мин. Препарат «Профеталь» в дозе 1,0 мкг/кг (8 опытов) с 5 по 15 мин после введения вызывал достоверное повышение ОСМК (в среднем на $15,2 \pm 2,8$ %). С 30-й по 60 мин эксперимента мозговой кровоток был выше исходного уровня в среднем на $5,5 \pm 1,2$ %. Через час после введения препарата и до конца эксперимента (120 мин) наблюдали достоверное повышение ОСМК, наиболее выраженное на 90 мин на $25,2 \pm 2,2$ % относительно исходных и контрольных опытов.

Во второй серии экспериментов препарат «Профеталь» вводили внутримышечно за 45-60 мин до исследования антигипоксической активности (в дозе 1,0 и 2,0 мкг/кг). В контрольной серии опытов выживаемость мышей составила в среднем 22,4%. При введении исследуемого препарата в дозе 2,0 мкг/кг выживаемость мышей составила 37,3%. Профеталь в дозе 1,0 мкг/кг достоверно увеличивал устойчивость животных к гипоксической гипоксии, количество выживших животных было на 68,6% выше относительно контрольной серии опытов.

Выводы

1. Профеталь в дозе 1 мкг/кг вызывает достоверное увеличение мозгового кро-

вотока у интактных животных. Наиболее значимый цереброваскулярный эффект проявлялся с 90 по 120 мин наблюдения.

2. Исследуемый препарат в дозе 1 мкг/кг обладает выраженной антигипоксической активностью: повышает выживаемость животных к гипобарической гиперкапнической гипоксии.

Влияние Феррум Лека на систему глутатиона мышей

Т.М.Баторова

Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск

Ионы железа способны активировать перекисное окисление липидов. Важнейшей системой организма, участвующей в детоксикации, является система глутатиона. Интерес представляет изучение влияния разных концентраций железа на систему глутатиона и разработка методов коррекции нарушений состояния системы глутатиона. В настоящее время существует достаточно большой выбор лекарственных средств, обладающих антиоксидантным действием. Но при этом сложно выбрать, какое из них будет нейтрализовать основное потенцирующее звено свободнорадикальных реакций – двухвалентное железо. Достаточно показательно использование α -липоевой кислоты (ЛК).

Цель работы: исследовать изменения в системе глутатиона печени и почек мышей при введении препарата Феррум Лек (ФЛ) отдельно и на фоне антиоксиданта ЛК.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 70 нелинейных мышах. Первая группа мышей

Список литературы

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – 2-е изд., перер. и доп. / Под ред. *Р.У. Хабриева*. – М.: Медицина, 2005. – С.41-47.

контрольная, остальным группам вводили подкожно ФЛ в разных дозах: 15-75 мг/сутки в течение недели отдельно и совместно с курсовым введением внутривенно липоевой кислоты в дозе 25 мг/кг в сутки. Концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) и активность ферментов системы глутатиона: глутатионтрансферазы (ГТ), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) в печени мышей измеряли стандартными спектрофотометрическими методами. Концентрацию производных тиобарбитуровой кислоты (TBARS) как маркера перекисного окисления липидов измеряли по методу J. Stocks. Результаты статистически обработаны с использованием критериев F, t Стьюдента и t Велча. Описаны только значимые изменения ($P < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Введение ФЛ сопровождалось увеличением концентрации TBARS в печени на 181-381%, в почках на 73-137%. Такое резкое увеличение concentra-

ции маркеров перекисного окисления свидетельствует об усилении свободно-радикальных процессов. В печени наблюдалось увеличение активности ГГТ на 209-347 % и снижение концентрации GSH на 35-76%, а в почках – снижение активности ГГТ на 41-63 % и концентрации GSH на 46-63%. Таким образом, введение ФЛ вызывает резкое увеличение ГГТ, единственного фермента, разрушающего глутатион. Это приводит к снижению концентрации GSH и развитию оксидативного стресса. Такое резкое увеличение ГГТ – признак гибели печеночных клеток. Также наблюдалось увеличение активности ГП в печени на 63-132 %, в почках на 28-40 %, активности ГТ в печени на 13-54%, а в почках снижение на 38-214 % и сниже-

ние активности ГПО в печени на 209-347 %, в почках – на 41-63 %. На фоне ЛК, обладающей защитным эффектом против свободно-радикальных процессов, наблюдалось меньшее увеличение концентрации TBARS и активности ГГТ и меньшее снижение концентрации GSH, активность ферментов (ГП, ГТ и ГПО) близка показателю контрольной группы.

Выводы

Таким образом, введение ФЛ в больших дозах вызывает резкие изменения в системе глутатиона, приводит к развитию оксидативного стресса; на фоне ЛК большинство показателей нормализуются.

Модель патологии кожи для доклинических испытаний препаратов

Д.А.Бондаренко

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

В настоящее время наблюдается прогрессивный рост заболеваемости связанных с нарушением иннервации и трофики кожи, в результате чего в ней могут возникать патологические изменения: шелушение, атрофия рогового слоя, изъязвления и иногда длительно незаживающие трофические язвы. Актуальной проблемой является разработка новых методов лечения этих заболеваний. Для проведения доклинических исследований лекарственных форм наружного применения необходимо использовать адекватные экспериментальные модели патологических состояний кожи.

Цель. Целью данного эксперимента было разработать модель патологии

кожи ступни задних лап на крысах CD при перерезке большеберцового нерва и перевязки подколенной артерии.

Материалы и методы

Эксперимент был произведен на 10 самцах крыс CD. Патологические изменения кожи ступни задних лап у крыс были произведены путем перерезки большеберцового нерва и перевязки подколенной артерии. Для наркоза использовалась смесь кетамин/ксилазин (кетамин 10% – 60 мг/кг, ксилазин 2% – 10 мг/кг), внутримышечно. На наркотизированном животном подготавливают операционное поле: удаляют шерсть на задней ча-

сти бедра, кожу обрабатывают дезсредством. Животное фиксировалось в спинном положении на хирургическом столе. Кожу обрабатывают 0,5% раствором хлоргексидина биглюконата на 70%-м этаноле. Участок кожи изолировался стерильной марлевой салфеткой и производился продольный разрез кожи длиной около 3 см. Используя ранорасширитель раздвигали края стенки. Не повреждая других тканей, осторожно, выделяли большеберцовый нерв и фиксировали его безопасными зажимами. Хирургическими ножницами нерв иссекается, после чего части нерва извлекаются из зажимов. Далее осторожно выделялась подколенная артерия и стягивалась лигатурой. В проведения операции во избежание пересушивания операционного поля, периодически его обрабатывали стерильным физ. раствором. По окончании на операционную рану накладывался прерывистый шов. В качестве шовного материала и для лигатур использовалась Ethilon – полифиламентная резорбируемая антимицробная полиамидная нить. Во время операции использовались только стерильные материалы.

Результаты и их обсуждения

После перерезки большеберцового нерва и перевязки подколенной артерии на следующий день наблюдалось побледнение кожных покровов в области стопы. На 3-5 неделе после проведения операции на подошвенной поверхности стопы стала отмечаться гиперемия и отёк,

как следствие синдрома локального воспалительного ответа. В последующие дни в центре участка поражения возникли очаги отслойки эпидермиса – так называемая белая атрофия кожи. На подошвенной поверхности развивался гиперкератоз. Кожа стоп и голеней теря-

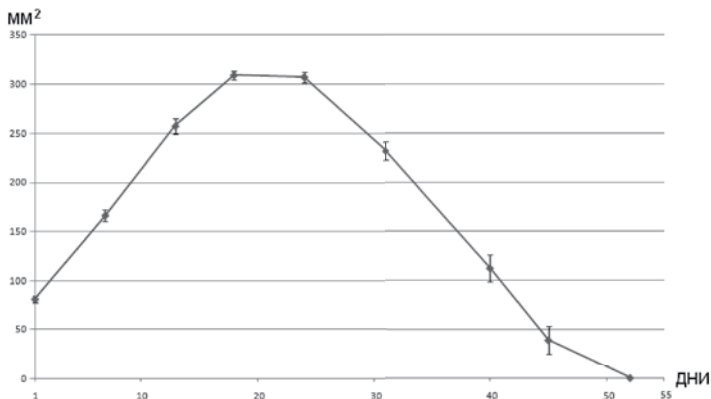


Рис. Динамика площади пораженной кожи по дням (P<0,01).

ла присущую ей эластичность, становилась сухой, шелушащейся. На 14-16 день после проявления патологии площадь гиперемии кожи и десквамации рогового слоя достигли максимального развития, которая сохранялась на протяжении 7-9 дней. В последующие дни отмечался регресс воспалительных процессов с исходом к 50-52 дню в дистрофически изменённую кожу. Данные о динамике размеров площади пораженной кожи (где 1 – это первый день проявления поражения) представлены в рисунке.

Выводы

Данная модель может быть использована для проведения доклинических испытаний лекарственных средств и исследований фармакологической активности новых химических веществ.

Разработка и доклиническое изучение инновационных композиций мягкой лекарственной формы на основе диметилдиглицероксисилана при термической травме

А.А.Волков, Л.П.Ларионов, Н.А.Забокрицкий, Т.Г.Хонина, И.Н.Тосова, Е.В.Федотова, А.А.Мишечкина, В.Е.Кочеткова, Е.В.Тарасова

*Уральская государственная медицинская академия», Екатеринбург
Институт органического синтеза им. И.Я.Постовского УрО РАН, Екатеринбург
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург*

Ожоги – одно из самых распространённых в мире травматических поражений. Так, в России на 2009 год было зарегистрировано 507,6 тысяч человек, получивших различные ожоги. Большую долю всех ожоговых поражений составляют ожоги II-III степеней.

Большую роль в лечении ожогов играет местное консервативное лечение. Большое распространение получили мази на полиэтиленгликолевой основе (ПЭГ), которая обладает высокой осмотической активностью, хорошо адсорбирует микробные и тканевые токсины. Тем не менее, несмотря на большой выбор средств, применяемых для лечения ожогов, проблема эффективной местной терапии остаётся актуальной.

В связи с этим в Институте органического синтеза им. И.Я.Постовского УрО РАН были синтезированы полиолаты кремния состава $\text{Me}_{4-n}\text{Si}(\text{OROH})_n \cdot x\text{HOROH}$ (где $2 \leq n \leq 4$; $0,5 \leq x \leq 2,9$; $\text{R} = -\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CHMe}-$, $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_{7,7}\text{CH}_2\text{CH}_2-$). В синтезе были использованы полиолы, разрешенные к применению в медицине: глицерин, 1,2-пропандиол, полиэтиленгликоль-400. Полиолаты кремния пред-

ставляют собой прозрачные бесцветные жидкости, хорошо растворимые в воде. На основе синтезированных полиолатов были получены гидрогели состава $\text{Me}_{4-n}\text{Si}(\text{OROH})_n \cdot x\text{HOROH} \cdot y\text{H}_2\text{O}$ (где $3 \leq y \leq 37$), а также комбинированные гидрогели – на основе двух различных полиолатов.

Цель. Изучить ранозаживляющие свойства новых фармацевтических композиций мягких лекарственных форм на основе диметилдиглицероксисилана.

Материалы и методы

Исследование проведено согласно Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (М., 2005) на трех группах крыс (по 10 животных в каждой группе) подтипа линии Wistar. Для изучения ранозаживляющей активности была выбрана модель термического ожога, который воспроизводился по следующей методике: на свободный от шерсти участок кожи прикладывалась металлическая пластина, нагретая до температуры 100-98°C. Время экспозиции составляло 40 сек. Таким образом, образовывался

Показатели ориентировочно-исследовательских реакций крыс в «открытом поле»

Мониторинг времени	Первая группа					Вторая группа				
	Время ухода с центрального круга, сек	Количество квадратов	Количество вставаний	количество «норок»	Груминг, количество	Время ухода с центрального круга, сек	Количество квадратов	Количество вставаний	Количество «норок»	Груминг, количество
До ожога										
Исходно	7,50±4,11	8,25±3,42	3,00±2,77	4,75±3,78	2,75±2,17	7,25±2,24	16,00±8,52*	6,60±3,69*	2,80±1,56*	2,80±1,69
30 мин	5,85±2,81	21,00±6,19	5,75±3,23	2,50±1,87	3,25±2,81	6,40±3,80	2,40±3,19*	3,80±2,93*	6,60±2,74*	3,40±2,94
60 мин	8,75±3,69	14,75±10,10	4,75±2,69	3,00±2,88	4,00±1,78	6,20±4,44*	18,40±8,73*	7,00±2,97*	3,40±2,67	5,20±1,90*
90 мин	8,50±2,46	18,25±3,33	4,50±3,34	5,75±2,71	5,25±3,78	8,20±3,06	8,20±6,65	7,40±4,40*	5,40±3,19	3,20±2,93*
120 мин	4,25±3,69	11,25±5,62	6,00±3,57	5,25±3,23	3,78±2,69	5,00±2,55	17,20±4,48*	9,00±2,77*	4,20±3,36	4,20±1,68*
10-е сутки после ожога										
Исходно	4,40±1,59	15,00±9,29	7,00±3,33	9,60±3,94	3,40±3,01	5,60±3,42	8,80±2,09*	8,80±2,72	6,40±3,53*	10,00±1,38*
30 мин	6,20±3,47	11,80±2,09	3,00±2,40	3,40±2,52	4,60±3,01	5,80±3,41	9,40±3,53*	7,20±3,84*	5,40±2,60	8,60±4,49*
60 мин	8,60±3,94	18,40±8,55	4,80±2,93	3,60±2,36	3,20±2,50	6,20±3,63	12,20±3,36*	6,60±4,49	5,60±2,67	3,60±2,81
90 мин	9,20±3,89	17,40±7,63	4,20±2,09	8,20±2,99	3,80±1,68	5,80±2,50*	13,80±5,98*	3,20±2,18	9,20±4,35	5,80±3,79
120 мин	5,60±2,81	18,40±8,86	4,20±2,50	5,00±3,22	6,20±3,73	4,60±2,60	14,20±5,89	5,20±2,09	13,80±4,26	5,60±3,99
20-е сутки после ожога										
Исходно	8,00±5,87	21,60±14,51	5,00±3,09	5,00±2,77	4,00±1,63	3,60±1,70*	17,80±11,12*	4,40±2,52	3,80±2,35	2,40±0,99
30 мин	4,00±2,77	9,60±5,73	2,00±0,61	2,00±1,07	2,40±1,32	1,80±1,14*	8,20±5,48	2,40±0,99	3,60±2,36	1,80±0,73
60 мин	3,00±1,63	5,40±1,17	2,40±0,99	1,40±0,48	2,00±0,61	1,40±0,78	15,20±5,41*	3,20±1,14	4,80±2,58*	1,60±0,78
90 мин	2,20±1,14	4,00±0,87	2,60±0,48	3,00±2,14	2,40±0,99	1,80±1,14	8,80±7,29	4,00±1,38	1,80±0,73*	1,20±0,39
120 мин	1,20±0,39	13,40±8,64	3,00±1,38	2,20±1,44	2,40±1,17	2,20±1,44	28,20±5,98*	3,00±1,63	3,20±0,96	2,60±1,32

* – Примечание: p<0,05

ожог II-IIIa степени. На следующие сутки начинали лечение животных. Первая группа крыс получала аппликации следующей фармацевтической композиции: никотиновая кислота 1,0%, пефлоксацин 0,5%, хлоргексидин 0,025%, основа – диметилдиглицероксисилан. Вторая группа животных также получала аппликацию, но содержащую: аекол 5,0%, пефлоксацин 0,5%, метронидазол 0,5%, основа – диметилдиглицероксисилан. Контрольной группе ожоговые поверхности обрабатывали фурацилином.

До нанесения термической травмы, на следующие сутки, на 5-е и 10-е сутки после выполнения ожога проводили исследование по оценке функционального состояния ЦНС крыс при использовании методики «открытое поле», в ходе которого регистрировали следующие показатели: время нахождения в центральном круге, количество пересечённых квадратов, количество заглядываний в «норки», количество вставаний на задние лапы, груминг.

Курс лечения продолжался 20 суток. На 21-е сутки проводили забор крови у животных (под эфирным наркозом) из полостей сердца.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel 2003.

Результаты и их обсуждение

Смоделировав термический ожог у экспериментальных животных, были выявлены некоторые особенности активности крыс в тесте «открытое поле». Результаты исследований представлены в таблице.

Процесс ранозаживления у животных первой группы завершился к 18-м суткам, в отличие от животных второй группы, где полное ранозаживление наблюдалось к 13-м суткам. У животных из контрольной группы процесс ранозаживления завершился только к 21-м суткам.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод, что среди двух представленных композиций наиболее эффективной является вторая, что возможно связано с входящим в ее состав аеколом. Тем не менее, учитывая небольшую выборку (по 10-ти животных в группе), говорить о каких-либо окончательных результатах преждевременно.

Изучение токсичности лекарственных средств *in vitro* при оценке их токсикологического взаимодействия

Т.А.Гуськова, Р.Д.Сюбаев, И.Н.Немкова, Г.Н.Енгальчева

Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва

Разработка эффективных методов оценки безопасности взаимодействия лекарственных средств (ЛС) является актуальной задачей в связи с широкой распространенностью комбинированной фармакотерапии. В настоящее время наиболее адекватным для оценки безопасности комбинаций ЛС принято считать подход, включающий два взаимосвязанных направления: прогнозирование токсикологического взаимодействия и экспериментальное исследование комбинации ЛС. Одним из перспективных направлений оценки безопасности комбинаций ЛС следует считать применение высокопроизводительных методов.

Цель. Создание адекватного метода изучения токсичности ЛС *in vitro* для оценки их токсикологического взаимодействия.

Материалы и методы

Анализ методической базы изучения цитотоксического действия *in vitro*, используемой в экспериментальной биологии и медицине.

Результаты и их обсуждение

Экспериментальное изучение токсичности сочетанного применения ЛС является основным источником наиболее достоверной информации о потенциальных токсических свойствах комбинации ЛС и эффектах взаимодействия, включая токсические эффекты, которые не мони-

торируются в клинике. Необходимость полноценного доклинического изучения токсических свойств новой комбинации ЛС обусловлена тем, что комбинированный препарат следует рассматривать как оригинальное комплексное вещество, которое обладает уникальными фармакологическими, фармакокинетическими и токсическими свойствами. Рекомендуемая стандартная программа токсикологических исследований включает изучение общетоксического действия (в остром и субхроническом эксперименте) и специфических видов токсичности комбинации ЛС и отдельных компонентов комбинации, что позволяет выявить и оценить эффекты токсикологического взаимодействия. Изучение токсичности комбинации без сравнения с действием отдельных компонентов комбинации допустимо, но малоинформативно, поскольку не позволяет оценить характер и выраженность эффектов токсикологического взаимодействия. Теоретически возможно также сравнение результатов экспериментального изучения комбинации с литературными данными о токсичности компонентов, однако подобный анализ редко оказывается успешным из-за многочисленных несовпадений или отсутствия достаточной информации об условиях цитируемых экспериментов. Экспериментальное изучение общетоксического действия комбинации в субхроническом эксперименте преследует две цели: а) оценить токсикологическую адекватность предлагаемого режима до-

зирования и профиль токсичности ЛС при комбинированном применении фиксированной или нефиксированной комбинации и б) выявить эффекты токсикологического взаимодействия и оценить их возможную клиническую значимость (сравнение ожидаемого прогнозируемого и фактического спектра токсичности комбинации).

В соответствии с принципом «3R» эксперименты на животных, как ожидалось, должны иметь тенденцию к сокращению по разным соображениям, в том числе, этическим. Однако на практике эта тенденция не находит кардинального воплощения. По-прежнему, несмотря на значительный прогресс в использовании принципиально новых и тонких методов экспериментальных медико-биологических исследований, стандартные эксперименты *in vivo* остаются незаменимыми и наиболее релевантными для экстраполяции экспериментальных эффектов ЛС на человека. Вместе с тем, очевидно преимущество, целесообразность, и, даже, вынужденная необходимость использования альтернативных методов исследования *in vitro* в тех случаях, когда громоздкий дизайн экспериментов имеет высоко затратный характер. Изучение токсичности многокомпонентных взаимодействий может оказаться чрезвычайно громоздким, если учесть что для адекватного выявления эффектов взаимодействия необходимо сравнивать экспериментальные группы отдельных препаратов и их комбинаций. Если добавить варьирование доз, то можно получить практически невыполнимую задачу. При этом очевидны значительные материальные и временные затраты, связанные с выполнением стандартных экспериментальных программ по углубленному изучению многокомпонентных

комбинаций. Анализ методических приемов при проведении планируемых исследований токсикологического взаимодействия с использованием методов *in vitro* показывает, что они могут обеспечить соблюдение практически всех принципиально важных условий для изучения лекарственного взаимодействия, к которым следует отнести возможности оценки: 1) характера и динамики эффекта; 2) зависимости токсического эффекта от дозы/концентрации; 3) обратимости выявленных эффектов; 4) характера взаимодействия (аддитивность, потенцирование, антагонизм); 5) статистической достоверности данных и вычисляемых на их основе кардинальных параметров, таких как «ингибирующая концентрация» (ИК50) и другие параметры.

Ожидаемые выгоды и недостатки применения токсикологических методов исследования *in vitro*:

1) высокая производительность и пригодность для использования в скрининговых экспериментальных программах, позволяющих проводить тестирования больших массивов комбинаций ЛС;

2) практически неограниченные возможности тестирования многокомпонентных лекарственных форм препаратов;

3) оценка прямого токсического действия ЛС на клетку (мишень) позволяет использовать полученные данные для анализа механизма токсических эффектов;

4) общие недостатки и возможные технические проблемы экспериментов *in vitro*, как правило, связаны с оценкой относительной экстраполяционной адекватности их условий в сравнении с условиями экспериментов *in vivo*, а также со степенью растворимости исследуемых веществ.

Вывод

Сформулирован методологический подход к использованию методов *in vitro* для изучения токсикологического взаимодействия ЛС.

Список литературы

1. *Гуськова Т.А., Волков А.Б., Еськов А.П., Каюмов Р.И.* Ускоренная оценка токсичности потенциальных фармакологических средств и новых химических соединений с помощью клеточного тест-объекта // Всесоюзная конф. Оценка фармакологической активности фармакологических соедине-

ний. Принципы и подходы: Тезисы докладов. Купавна. 1989. – С. 102.

2. *Каюмов Р.И., Еськов А.П., Ланно В.Г., Бобрович В.В.* Биологическая экспресс-оценка химической опасности полимеров медицинского назначения // VIII Всесоюзный науч. симпозиум «Синтетические полимеры медицинского назначения»: Тезисы докладов. Киев, 1989. – С. 182-183.

3. *Каюмов Р.И., Еськов А.П., Ланно В.Г., Бобрович В.В.* Контроль токсичности полимерных изделий медицинского назначения при промышленном выпуске методом *in vitro* // IX Всесоюзный науч. Симпозиум «Синтетические полимеры медицинского назначения». Тезисы докладов. Звенигород, 1991. – С. 159.

Определение антиоксидантной активности лекарственных средств, бадов и лекарственного растительного сырья

Е.Ю.Демченкова, В.П.Пахомов

Институт клинической фармакологии ФГУ НЦ ЭСМП Росздрава, Москва

Известно, что всем тканям человека свойственен процесс свободно-радикального окисления органических молекул. Наиболее важен этот процесс для построения и обновления структурных липидов клеточных мембран, а также для синтеза ряда гормонов. Регулирование процессов свободно-радикального окисления и уровня, накапливающихся при этом в клетках организма перекисных радикалов, осуществляется защитной антиоксидантной системой – одним из звеньев сложной системы адаптации организма.

Под влиянием на организм человека неблагоприятных экологических факторов, повышенных физических и эмо-

циональных нагрузок, а также при длительных заболеваниях и в процессе старения свободно-радикальное окисление в организме активизируется. Защитная антиоксидантная система перестает справляться со своей функцией регулятора содержания свободных радикалов и, вследствие этого, возникает цепная реакция с накоплением в организме избыточного количества активных радикалов – развивается синдром перекисидации, что требует применения лекарственных средств обладающих антиоксидантными свойствами. У различных лекарственных средств существует большая вариабельность антиоксидантной активности, следовательно, необхо-

димо определять антиоксидантную активность каждого испытуемого лекарственного средства.

Цель. Оценить антиоксидантную активность лекарственных средств для их рационального применения.

Материалы и методы

В работе описан новый инструментальный амперометрический метод оценки антиоксидантных свойств, в основе которого заложен электрохимический процесс окисления действующих веществ содержащихся в лекарственном препарате (анализатор антиоксидантной активности «ЦветЯуза 01-АА»).

В работе было указано, что электрохимическое окисление может быть использовано как модельное при измере-

бодного радикала). Обе реакции включают разрыв одной и той же связи О-Н., Н., которая состоит из $\bar{e} + H+$. Таким образом, способность к захвату свободных радикалов флавоноидами или другими полифенолами (т.е. их антиоксидантная активность) может измеряться величиной окисляемости этих соединений на рабочем электроде амперометрического детектора. Сигнал регистрируется в виде дифференциальных выходных кривых. С помощью специального программного обеспечения производится расчет или высот пиков (дифференциальных кривых) анализируемого и стандартного веществ. Для анализа использовалось среднее значение из 3-5 последовательных измерений. В качестве стандартного вещества использовался кверцетин.

Таблица 1

Антиоксидантный потенциал лекарственного растительного сырья с гепатопротекторным действием

№ п/п	Лекарственное растительное сырье	АОА, мг/г
1	Листья мяты перечной	15,96
2	Трава репешка обыкновенного	11,09
3	Цветки пижмы обыкновенной	4,55
4	Плоды шиповника майского	3,06
5	Цветки бессмертника песчаного	2,84
6	Семена расторопши пятнистой	2,91
7	Корневища аира болотного	2,25
8	Трава полыни горькой	1,57
9	Столбики с рыльцами кукурузы	0,33

нии активности свободных радикалов, в соответствии со следующими уравнениями: флавоноид-О-Н \rightarrow флавоноид-О. + \bar{e} + H $+$ (окисление при максимальном потенциале); флавоноид-0-Н \rightarrow флавоноид-0. + Н. (улавливание сво-

Амперометрический прибор имеет ряд преимуществ при определении антиоксидантной активности. Без учета пробоподготовки время отдельного определения занимает несколько минут. Анализ (регистрация и обработка результа-

Антиоксидантная активность БАДов и лекарственных препаратов

№ п/п	Наименование БАДа	Величина АОП, мг/мл
1	«Чернега»	0,85
2	«Живая капля»	0,58
3	«Стройность»	0,53
4	«Свободное дыхание»	0,90
5	«Артровит»	0,70
6	«Зимняя вишня»	1,05
7	«Морфей»	0,06
8	«Силимара» ЗАО Фармцентр ВИЛАР, Россия	0,29
9	«Бонджигар» Herbion, Пакистан	0,34
10	«Мексидол»	1,65

тов) проходит в реальном времени; правильность и воспроизводимость анализа обеспечивается за счет точного дозирования шестиходовым краном; объем дозируемой петли может меняться от 20 до 500 мкл; СКО дозирования краном менее 0,5%; СКО последовательных изменений анализируемых проб < 3%.

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 приведены полученные нами данные по определению АОА водных извлечений из лекарственного растительного сырья с гепатопротекторными свойствами, данные помогают установить подлинность и количественные величины.

В таблице 2 приведены данные по определению АОА лекарственных средств.

Выводы

Таким образом, наибольшей антиоксидантной активностью из синтетических препаратов обладает «Мексидол», из препаратов лекарственного растительного сырья с гепатопротекторными свойствами – листья мяты перечной. Считаем, что АОА БАДов может быть повышена за счет использования лекарственных растений, богатых антиоксидантами. Повышая АОА любого препарата, улучшаются его фармакологические свойства, повышается защита организма человека от токсического и разрушающего воздействия свободных активных радикалов.

Общетоксическое действие пептидного антибиотика ареницина

И.А.Дьяченко

Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (ФИБХ РАН), Пущино

Ареницин является эндогенным антибиотиком беспозвоночного *Arenicola marina* (пескожил морской), относящегося к классу *Polychaeta* (многощетинковые) типа *Annelida* (кольчатые черви). Молекула Ареницина представляет собой немодифицированную пептидную цепь, содержащую 21 аминокислотный остаток и стабилизированную одной дисульфидной связью, замыкающей цикл из 18 аминокислотных остатков. Ареницин вырабатывается целоμοцитами (фагоцитирующими клетками целома червя) и обладает антибактериальной и противогрибковой активностью. Механизм действия Ареницина предположительно состоит в избирательном нарушении барьерной функции клеточных мембран патогенных микроорганизмов, не затрагивающей мембраны клеток организма-хозяина. Ареницин является представителем принципиально нового семейства антимикробных пептидов и может найти применение в качестве антибиотика широкого спектра действия.

Целью данного исследования было изучение общей токсичности пептидных антибиотиков на мышах CD-1.

Материалы и методы

Исследования выполнялись на мышах CD-1. Животные были получены из НПП ФИБХ «Питомник лабораторных животных» и содержались в барьер-

ных помещениях в стандартных условиях, рекомендуемых для содержания грызунов [2]. Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены биоэтической комиссией ФИБХ. Пептиды вводили, внутрибрюшинно, использовали стандартные объемы введения [2]. Определение класса токсичности, а также летальных (ЛД₁₆, ЛД₅₀) и максимальных толерантных доз (МТД) выполняли при однократном введении вещества самцам мышей. Для определения класса токсичности использовали рекомендации руководства 420 OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [3]. Введение начинали со стартовой дозы 50 мг/кг. В зависимости от токсических проявлений и способа введения в предыдущей группе следующим группам животных вводилась большая или меньшая доза. После введения за всеми животными проводилось наблюдение в течение 3-х дней, затем проведена их эвтаназия и некропсия. Расчет ЛД₁₆ и ЛД₅₀ производили методом наименьших квадратов с использованием пробит-анализа [1]. За МТД принималась максимальная доза, при которой наблюдались выраженные признаки токсичности у нескольких животных и гибель не более 1 животного в группе.

Результаты и их обсуждение

Предварительное исследование Ареницина выявило, что 30 мг/кг является

ся МТД, последующее увеличение дозы вызвало токсическую гибель экспериментальных животных, из чего и был произведен расчет ЛД₅₀. В исследовании острой токсичности, результаты клинического осмотра выявили основные отклонения внешних изменений состояния здоровья экспериментальных животных в дозах 30 мг/кг и 35 мг/кг Ареницина. Обнаружено, что как у самок, так и у самцов отклонение в состоянии были одинаковыми, что указывает на общие «системы» мишени пептида Ареницин. Внешний клинический осмотр животных в 1-й день после введения дозы 30 мг/кг Ареницина показал, что у 100% самцов наблюдается затрудненное дыхание, малая частота дыхания. Предположительно данные клинические проявления указывают на нарушение функционирования дыхательного центра, паралич межреберных мышц, угнетение холинергических процессов, аналогичные проявления наблюдались и у самок, соответственно. Пальпация экспериментальных животных в области сердца выявила нарушения частоты,

ритмичности и последовательности возбуждения и сокращения сердца, что указывает на аритмию. Данные проявления подтверждают нарушение дыхательного центра и сердечно – легочную недостаточность, аналогичные признаки наблюдались и у самок.

Внешний клинический осмотр выявил низкую двигательную активность или дремотное состояние всех экспериментальных животных получавших Ареницин. Данный признак указывает на подавление ЦНС снижением двигательной активности. В дозе 30 мг/кг у 35% самцов и 55% самок обнаружено клоническое дыхание, синюшная кожа, в дозе 35 мг/кг у 50% самцов и 42% самок обнаружено клоническое дыхание и синюшная кожа. Данные признаки указывают на нарушение нервно – мышечной передачи и дыхательной недостатичи. Проявление данных признаков вызвало гибель животных через 20-25 минут. В исследовании острой токсичности обнаружено, что самцы после введения Ареницина в дозе 30 мг/кг к 14 дню исследования не набрали вес в отличие от группы Рас-

Таблица

Изменение веса тела у самцов и самок мышей CD-1 при введении растворителя и Ареницина

	Группа: №1 (Растворитель)		Группа: №2 (Ареницин 30 мг/кг)		Группа: №3 (Ареницин 35мг/кг)	
	Самцы n=6	Самки n=6	Самцы n=7	Самки n=5	Самцы n=5	Самки n=3
1-й день, г	32,2±2	24,1±1,3	31,7±3,7	24,1±1,4	30,5±3,3	22,3±4,1
7-й день, г	33,3±2,3	24,9±1,6	30,4±3,6	25±1,5	29,7±3,1	22,5±4,0
7-й день, %	3,6±5,9	3,3±4,2	-4±3,9	3,8±1,4	-2,6±2,3	1,0±1,5
14-й день, г	34±2,9	25,7±1,2	30,8±3,6	25,8±1,7	30,3±1,7	22,8±4,1
14-й день, %	5,5±7,3	6,7±4,1	-2,7±4,1	6,9±3,7	-0,3±7,3	2,2±2,2

– P<0,05 относительно группы «1-й день»

творитель (табл.). Такие результаты наблюдались и в группе 35 мг/кг. Однако самки к 14 дню эксперимента проявляли тенденцию к набору веса после введения Ареницина.

Выводы

Таким образом, МТД для Ареницин 30 мг/кг, ЛД₅₀ – 38,1, ЛД₁₆ – 32,6. Результаты клинического осмотра в первый день после введения Ареницин показали, что гибель животных наблюдается в первые 20-25 минут после введения. Проявление клонического дыхания и синюшной кожи вызывает гибель животного. Обнаруженные клинические признаки указывают на угнетение дыхательного центра, сердечно – легочной недостаточности, подавления ЦНС. Пептидный ан-

тибиотик Ареницин может быть отнесен к 3 классу токсичности ($20 > \text{ЛД}_{50} > 700$ мг/кг) для мышей CD-1. В исследовании острой токсичности обнаружено изменение веса тела экспериментальных животных, в котором самки быстрее переносили исследуемый препарат, проявляя тенденцию к набору веса.

Список литературы

1. *Гуськова Т.А.* Токсикология лекарственных средств. М.: МДВ, 2008.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. *Р.У. Хабриева*. М.: Медицина, 2005.
3. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure. OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Guideline 420. Paris: OECD, 2001.

Основные ошибки, выявляемые при экспертизе результатов доклинических исследований воспроизведенных лекарственных средств

Г.Н.Енгальчева, Р.Д. Сюбаев, О.Л.Верстакова

Научный центр экспертизы средств медицинского применения Росздравнадзора, Москва

Проблемы стандартизации производства генерических препаратов, а также качества компонентов, входящих в их состав, обуславливают целесообразность токсикологического тестирования для подтверждения идентичности токсического действия воспроизведенных препаратов и зарегистрированных аналогов.

Цель. Выявление типичных недостатков доклинической оценки безопасности воспроизведенных препаратов для совершенствования критериев экспертизы и методических рекомендаций.

Материалы и методы

Экспертиза материалов по безопасности воспроизведенных лекарственных препаратов, поступающих в ФГУ НЦЭСМП в составе регистрационных досье.

Результаты и их обсуждение

Рекомендуемые токсикологические исследования воспроизведенных препаратов, как правило, включают сравнительное изучение острой и субхронической токсичности заявляемого препарата и зарегистрированного аналога. Анализ результатов экспертизы показал, что недостатки доклинической оценки безопасности генериков разделяются на две основные категории – методологические и формальные. Наиболее серьезные методологические недостатки связаны с дизайном эксперимента, выбором исследуемых доз, способа введения, с оценкой токсического действия, корректностью интерпретации экспериментальных данных и др. Формальные недостатки являются следствием несоблюдения пра-

вил качественной лабораторной практики (GLP) и характеризуются отсутствием подробной идентификации проведенного исследования (организации, подразделения, руководителя исследования, исполнителей, сроков проведения исследования и т.п.) и юридически некорректным или небрежным оформлением отчета, отсутствием приложений с протоколами экспериментов. Важно отметить, что подобные недостатки могут скрывать намеренное искажение результатов или фальсификацию данных.

Методологические недостатки не позволяют сделать однозначного заключения об идентичности токсических свойств разработанного препарата и его аналога, зарегистрированного в РФ. Причиной этого часто является серьезный дефект дизайна исследования – использование в эксперименте нетоксических доз, что противоречит методологическим принципам токсикологических исследований. Фактически, в эксперименте не выявляются токсические эффекты и, следовательно, отсутствует возможность сравнения их параметров (порога, характера, выраженности, обратимости, дозозависимости). Типичным результатом этих экспериментов является отсутствие токсических эффектов во всех экспериментальных группах, которое может указывать лишь на возможное сходство токсических свойств, но не характеризует их идентичность. В подобных случаях заключение токсикологической экспертизы может содержать указание о возможном различии переносимости сравниваемых препаратов в

клинике, что следует рассматривать как токсикологическое основание для рассмотрения вопроса о целесообразности проведения предрегистрационных клинических исследований воспроизведенного препарата.

Полная уверенность в сходном профиле безопасности препаратов одной генерической линии возможна после проведения корректных сравнительных доклинических исследований. Правильный выбор препарата сравнения при проведении доклинических исследований имеет принципиальное значение для доказательства идентичности токсикологического профиля предлагаемого лекарственного средства и ранее зарегистрированного препарата. Исследования воспроизведенного препарата предпочтительно проводить в сравнении с оригинальным препаратом фирмы-инноватора, а при невозможности использования оригинального лекарственного препарата стандартом может служить лекарственный препарат, лидирующий на рынке страны, если подтверждены его качество, безопасность и эффективность. Однако выбор препарата сравнения для проведения доклинического изучения нового воспроизведенного лекарственного средства чаще происходит случайно, а препараты фирмы-инноватора используются крайне редко. Отказ от использования эталонных препаратов может стать причиной постепенного снижения оценочного критерия и, как следствие, внедрения в клиническую практику лекарственных средств более низкого качества.

При экспертизе результатов сравнительного токсикологического исследования воспроизведенных препаратов отмечаются случаи существенного расхождения параметров токсичности одних и тех же препаратов в отчетах от раз-

ных производителей. При этом нередко отсутствует достаточно подробное описание условий эксперимента, характеристик экспериментальных животных и тестируемого вещества (экспериментальной формы препарата), обоснование выбора доз и анализ полученных результатов с учетом параметров токсичности препарата по литературным данным. Несмотря на то, что определенные количественные колебания токсичности обусловлены допустимой погрешностью эксперимента при изменении характеристик тест-объекта и исследуемого вещества, существенные расхождения результатов могут свидетельствовать как о некорректном проведении эксперимента, так и об отсутствии контроля качества тестируемого вещества или неадекватном выборе исследуемых доз.

Выводы

1) Информативность сравнительных токсикологических исследований и корректность выводов о токсичности воспроизведенных препаратов зависит от адекватности выбора исследуемых доз, в которых препараты должны вызывать регистрируемые токсические эффекты.

2) Адекватный выбор препарата сравнения для оценки токсикологических свойств нового воспроизведенного препарата позволит объективно подтвердить идентичность профиля его безопасности и гарантировать выход на фармацевтический рынок лекарственных средств высокого качества.

3) Для оценки корректности проведенных исследований и исключения методологической погрешности, влияющей на параметры токсичности, необходимы тщательное документирование в отчете условий эксперимента, характеристик тест-объекта и тестируемого вещества, а также анализ полученных результатов с учетом литературных данных.

Проблемы доклинического токсикологического изучения безопасности вакцин

И.Б.Жоголева, С.М.Головина, Р.Д.Сюбаев, О.Л.Верстакова

Научный центр экспертизы средств медицинского применения Росздравнадзора, Москва

В связи с существующей в настоящее время напряженной эпидемиологической обстановкой в мире происходит интенсивная разработка новых вакцинных препаратов. Оценка безопасности вакцин, наряду с эффективностью, является важнейшей частью их доклинического изучения.

Цель. Оценка объема и качества доклинических токсикологических исследований вакцин, предлагаемых для медицинского применения.

Материалы и методы

Анализ результатов экспертизы материалов по безопасности вакцин, представленных с целью получения разрешения на проведение клинических исследований или медицинское применение; научно-аналитический метод.

Результаты и их обсуждение

Анализ результатов доклинических токсикологических исследований вновь разработанных вакцин позволяет выявить характерные недостатки токсикологических исследований и их несоответствие действующим методическим рекомендациям. В частности, согласно РД 42-28-8-89 «Доклинические испытания новых медицинских иммунобиологических препаратов. Основные положения» безопасность вакцинного препарата должна быть исследована на этапе доклинических испытаний по программе оценки способности инфекционного агента преодолевать гистогематологические барьеры, вызывать повреждение чувствительных тканей и органов;

оценивается степень выраженности процесса, его динамика у обычных и иммуносупрессированных животных, влияние на ЦНС, местные реакции, проводится гистологическое исследование важнейших внутренних органов, включая иммунокомпетентные. Обязательным этапом комплексного изучения вакцины является изучение аллергизирующего действия иммунобиологического препарата, а также оценка его влияния на иммунную систему. Обычно разработчиками представляются результаты изучения общетоксического действия препарата в остром и субхроническом эксперименте. Однако в токсикологических исследованиях не всегда применяется схема (кратность) и способ введения вакцины, которые использовались при определении ее специфической активности и предполагаются к применению у человека. Иногда отсутствует изучение общетоксических свойств вакцинного препарата, что обосновывается авторами использованием при производстве известных зарегистрированных штаммов, при этом не учитываются различия в используемых производственных процессах и возможное присутствие в конечном продукте токсичных технологических примесей. Не всегда приведены результаты изучения сенсibiliзирующих свойств вакцины и ее иммунологической безопасности: способности изменять иммунный ответ организма на различные антигены путем воздействия на различные звенья иммунитета, вызывать поликлональную активацию иммунокомпетентных клеток и др.

Выводы

При проведении доклинических токсикологических исследований вакцин, предназначенных для клинических исследований или медицинского применения, необходимо глубокое изучение как их общетоксического действия (с уче-

том рекомендуемых схем иммунизации), так и специфических видов токсичности (иммунотоксичность, аллергизирующее действие), обусловленных спецификой данной лекарственной группы препаратов, для которых иммунная система является основной мишенью воздействия.

Новое средство интимной гигиены Фемивит в коррекции воспалительных заболеваний органов малого таза

Н.А.Забокрицкий, Л.П.Ларионов, А.Б.Бакуринских

*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург
Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург*

В настоящее время для лечения больных урогенитальными инфекциями наряду с традиционными методами лечения всё чаще применяют комплексное лечение с использованием иммуностимулирующей терапии [2-4]. Увеличение уровня sIgA в биологической жидкости расценивают как положительный иммунологический критерий эффективности локальной иммунотерапии [1].

Применение в акушеско-гинекологической практике пробиотических препаратов является новым стратегическим направлением в терапии и профилактике инфекционных болезней и патологических состояний, связанных с дисбиотическими процессами. Микробные составы применяемы в России в виде суспензий, предназначенных в основном для интравагинальной аппликации. Такие суспензии содержат живые культуры молочно-кислых бактерий, либо смесь лактобацилл и бифидобактерий [3-5].

Цель работы – оценить динамическую вариабельность некоторых показателей гуморального иммунитета при использовании средства интимной гигиены

«Фемивит» в коррекции заболеваний органов малого таза.

Материалы и методы

Проведено комплексное динамическое обследование 40 женщин с диагнозом хронический двусторонний сальпингоофорит. Были сформированы рандомизированные группы. Возраст обследованных составил от 19 до 36 лет, в среднем 25,2 года. Длительность хронического воспалительного процесса составила в среднем 27,4 года.

Группу сравнения составили 20 женщин того же возраста, не имеющих экстрагенитальной патологии и гинекологических заболеваний.

Обследованные женщины с диагнозом «хронический двусторонний сальпингоофорит» были разделены на 2 группы. 1-ю группу (основную) составили 20 пациенток, в комплекс лечения которых, помимо традиционной терапии, включено средство интимной гигиены «Фемивит» в виде аппликационной суспензии 2 раза в день в течение 12 дней. Вторую (контрольную) группу составили 20 женщин, получавших только традиционную терапию.

Определение концентрации IgA, IgG, IgM сыворотки крови проводили с помощью ИФА.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием программы Statistica 6,0. Достоверность различий показателей определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Оценка гуморального звена иммунитета. Перед началом лечения было выявлено, что концентрация IgA и IgG в плазме крови были в пределах нормальных. Уровень IgM был незначительно повы-

шен, что, как известно, связано с острым воспалительным процессом, поэтому в процессе лечения определяли динамическое снижение этого показателя (таб.).

Выводы

Таким образом, оценивая в целом влияние терапии средством интимной гигиены «Фемивит» на состояние иммунитета, можно заключить, что нарушения гуморального иммунного статуса у больных с хроническим сальпингоофоритом изменяются в сторону восстановления нормальных значений, что подтверждается наглядным, но не ярко выраженным динамическим изменением этих показателей.

Таблица
Влияние средства интимной гигиены «Фемивит» содержание Ig в сыворотке крови больных в динамике, МЕ/мл ($M \pm m$)

Группа больных	n	IgA	IgG	IgM
До лечения Фемивитом	20	103±19	136±22	302±18*
После лечения Фемивитом	20	83±21	97±15	186±25**
Контроль до лечения	20	123±9,0	119±8,0	360±37*
Контроль после лечения	20	121±16	108±11,0	192±16**
Здоровые	20	128±14	154±23	168±31

Примечание: *Различия показателей достоверны при $p < 0,05$ основной и контрольной групп;

** Различия достоверны при $p < 0,05$ в сравнении с показателями до лечения;

Список литературы

1. *Архипов С.Н.* Нарушения в иммунном и интерфероновом статусе и влияние на них некоторых иммуномодуляторов при заболеваниях урогенитальной и бронхолёгочных систем: Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2001. – С.138.

2. *Ершов Ф.И., Тазулахова Е.Б.* Индукторы интерферона: новое поколение иммуномодуляторов // Вестн. РАМН. – 1999. – № 4. – С.52-56.

3. *Коршунов В.М., Ефимов Б.А., Пикина А.П.* Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррек-

ции микрофлоры кишечника // Ж. микробиол. – 2000. – №3. – С.102-103.

4. *Рюмин Д.В., Коваленко Е.В., Новицкая С.А.* Характеристика иммунного статуса у больных с хроническим рецидивирующим урогенитальным хламидиозом // Вестн. Росс. ассоц. акуш.-гин. – 1999. – № 1. – С.26-27.

5. *Самарцев А.А., Астапович Н.И., Новик Г.И.* Особенности роста и образования внеклеточных протеиназ *Bifidobacterium adolescentis* 94-БИМ // Микробиология. – 1997. – Т.66. – № 5. – С.623-626.

Доклиническая фармакологическая оценка токсичности, безопасности и эффективности нового зубного эликсира «Дентозар»

Н.А.Забокрицкий, А.А.Бакуринских, Е.А.Бакуринских

*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург
Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург*

Результаты последних исследований отечественных и зарубежных авторов показали, что только в России более чем у половины населения выявляются различного рода микробиологические нарушения органов полости рта – дисбактериозы. Многие заболевания стоматологического профиля в большинстве случаев сопровождаются воспалительными и нередко дистрофическими явлениями. Они также проявляются при целом ряде заболеваний и патологических состояний внеоральной локализации: при респираторно-вирусных и гнойно-септических инфекциях, аллергопатологии, стрессах и т.д. Это обусловлено тем, что нормальная микрофлора является обязательным и неотъемлемым участником многих физиологических процессов, протекающих в органах и тканях хозяина: пищеварения, выделения, дыхания, дифференцировки клеток, регуляции газового состава полостей и жидкостей, водно-солевого обмена, физико-химического гомеостаза, метаболизма углеводов, белков, липидов, стероидов, желчных кислот, детоксикации экзо- и эндогенных субстратов и метаболитов, продукции биологически активных соединений.

Цель работы – в гистологических исследованиях апробировать новое жидкое средство гигиены полости рта и провести доклинические исследования по оценке токсичности, безопасности и

фармакологической активности некоторых свойств нового зубного эликсира «Дентозар».

Материалы и методы

Для выполнения данного раздела работы было проведено экспериментальное исследование при соблюдении требований, сформулированных в методических материалах по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств (Издание официальное, М., 1986) и изложенных в руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (М., 2006). Исследования проводили на половозрелых лабораторных животных самках и самцах поровну: 116 белых мышах массой 23-25 г, 108 белых крысах линии подтипа Wistar стандартного разведения массой 186,4±5,9 г, 16 морских свинок массой 320-350 г и 16 кроликах породы «Шиншила» массой 1500-1700 г. Лабораторные животные были разделены на 2 группы. Первая группа экспериментальных животных служила контролем, в неё входили интактные животные. Вторая группа получала зубной эликсир «Дентозар». Перед экспериментом, каждые 10 дней в период исследований и через 2 недели после окончания применения препарата изучали показатели периферической крови, мочи, общий бе-

лок, остаточный азот, сахар крови, резистентность эритроцитов, ЭКГ и определяли число дыхательных движений в 1 минуту. Взвешивали органы и брали на гистологическое исследование печень, почки, надпочечники, селезёнку, сердце, лёгкие, желудок, кожу и слизистые оболочки с места нанесения исследуемого препарата, щитовидную и поджелудочную железы, надпочечники. Ткани фиксировали в 10 % растворе формалина.

Результаты и их обсуждение

Разработана рецептура нового жидкого средства гигиены полости рта. Зубной эликсир «Дентозар» представляет собой комплексное, сложно-составное гигиеническое средство с лечебно-профилактическим действием. Зубной эликсир, получен в жидкой лекарственной форме светло-желтого цвета со вкусом мяты и ментола. Значение рН равно 7,0-7,5. В результате выполненных исследований по выявлению острой токсичности зубного эликсира «Дентозар» установлено, что при внутрижелудочном и накожном применении разработанного средства экспериментальное состояние животных не отличалось от такового у интактных животных. Поведение, аппетит, физиологические выделительные функции, функции сердечно-сосудистой и дыхательной систем, прибавление в весе были идентичны контрольным и интактным животным. Общий белок, сахар крови, остаточный азот оставались в пределах допустимых норм. Деструктивных, некробиотических и дистрофических изменений в печени, почках, надпочечниках, сердце, селезенке, легких, щитовидной железе, желудке и коже не выявлено ни у одного экспериментального животного

при гистологическом исследовании внутренних органов и тканей. Весовые коэффициенты основных органов опытных животных не отличались от данных первой группы. В процессе изучения хронической токсичности, которое продолжалось в течение 60 суток, исследования тканей и органов животных разных групп, получавших зубной эликсир «Дентозар» в различных дозах при разных путях введения, показали отсутствие патологических изменений. Результаты экспериментального исследования дают основания считать, что предлагаемый эликсир нетоксичен, относится к «веществам мало-опасным» – IV класс опасности согласно ГОСТу (12.1.007-76).

Результаты патоморфологических исследований органов и тканей подопытных животных (крыс, мышей и кроликов) позволяют сделать заключение о том, что при различных путях введения изучаемого средства патологических изменений в исследуемых гистологических образцах не выявлено.

Данные анализа крови в соответствии с микроядерным тестом при воздействии на подопытных животных внутрибрюшинно и при накожном нанесении 23% раствора эликсира свидетельствуют, что для местного применения он не обладает мутагенным действием. Учитывая тесную связь мутагенеза и канцерогенеза, состав эликсира и способ его применения, канцерогенное действие представляется маловероятным.

Выводы

1. Полученные авторами результаты по изучению гистологического материала позволяют сделать вывод, что предлагаемый эликсир не вызывает отрицательного действия на уровне его применения

в экспериментальных условиях на лабораторных животных: при кратковременном и длительном контакте с эликсиром слизистые склеры глаз и ротовой полости остаются без изменений. Длительное воздействие (12-14 суток по одной аппликации в сутки) эликсира на другие слизистые, в том числе и половые органы самок белых крыс и морских свинок также не вызывает отрицательных проявлений. При изучении кожно-резорбтивного действия ни у одного животного явлений интоксикации не наблюдали.

2. Таким образом, результаты экспериментальных исследований предлагаемого нового зубного эликсира «Дентозар» дают основания считать, что он не токсичен, быстро выводится из организма, не кумулирует, не обладает местным раздражающим действием, мутагенной активностью, канцерогенными свойствами, не является аллергеном. Морфологических изменений слизистых рта, глаз и половых органов у белых крыс и морских свинок под влиянием эликсира не установлено.

Гепатопротекторный эффект мультикомбинированной лекарственной формы на основе лиофилизата облепихового масла с учетом индивидуальных особенностей работы ЖКТ

Е.Е.Зацепина, Н.С.Ляхова

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

В будущем для более точной диагностики и разработки наиболее сбалансированных методов профилактики и терапии будет использоваться информация об индивидуальных генетических особенностях каждого пациента. Такая персонализированная медицина, направленная на лечение конкретного больного, а не на лечение болезни, должна совершить прорыв и повысить безопасность терапии.

Цель. Изучить гепатопротекторный эффект 30 вариантов лекарственной комбинированной формы на основе лиофилизата облепихового масла в разном соотношении исходных компонентов. Состав: Концентрат облепихового масла, Витамин U, Магния оксид, Ранитидин, Метронидазол, Циклодекстрин.

Материалы и методы

Проводились исследования специфической гастропротекторной активности 30 вариантов комбинированной лекарственной формы на основе лиофилизата облепихового масла: влияние на ульцерогенез острый (стероидно-этаноловый), подострый (аспириновый), ишемический (лигирование привратника, резерпиновый ульцерогенез), влияние субстанций на секреторную и моторно-эвакуаторную функцию желудка и кишечника.

Результаты и их обсуждение

Животные, получавшие варианты комбинированной лекарственной формы на основе лиофилизата облепихового масла №9 и №18, не имели гиперемии

слизистой оболочки. Животные, получавшие варианты №3 и №5 не имели гиперемии слизистой оболочки, язв, лишь легкое еле заметное покраснение. Таким образом, исследуемые №9 и №18 показала наилучший эффект, №3 и №5 менее выраженный эффект и оставшиеся варианты: № 23, №8, №28, №22, №24, №19, №11, № 21, №15, №26, № 4, №2, №29, №20, №25, №7, №1, №16, №27, №12, №13, №10, №14, №30, №6 обладали наименее выраженным эффектом, убывающим в порядке перечисления.

По степени выраженности кинетического действия на моторно-эвакуаторную функцию ЖКТ исследуемые варианты комбинированной лекарственной формы на основе лиофилизата масла облепихи повели себя неоднозначно. Варианты № 9, №14, №17, №22 показали выраженный послабляющий эффект, варианты №5, №7, №11, №13, №27 запирающий эффект, остальные не оказывали значительного влияния.

Так же экспериментально было доказана возможность контроля соляной кислоты, что немаловажно при длительной терапии.

Выводы

Полученные результаты показали возможность применения нового состава комбинированной лекарственной формы на основе лиофилизата облепихово-

го масла в качестве лечебного и профилактического средства для фармакотерапии язвенной болезни и воспаления желудка и кишечника. В интегральном отношении новое противоязвенное средство представляет собой наиболее удачную комбинацию средств растительного и синтетического происхождения. А возможные варианты могут адаптировать данную лекарственную форму под индивидуальные особенности состояния и работы ЖКТ.

Список литературы

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – 2-е изд., перер. и доп./ Под ред. *Р.У. Хабриева*. – М.: Медицина, 2005. – С.41-47.
2. *Зацепина Е.Е., Сергиенко А.В.* Поиск противовоспалительных средств без гастротоксического эффекта // Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Естеств. науки. Спецвыпуск. Проблемы фармации, фармакологии и рациональной терапии. – 2007. – С. 71-73.
3. *Зацепина Е.Е.* Исследование гастропротекторной активности многокомпонентной лекарственной формы на основе концентрата облепихового масла // Клиническая фармакология и терапия. Мат. науч.-практ. конференции с межд. участием «Достижения клинической фармакологии в России». Москва, 7-8 сент., 2009. С.275-276.

Гепатопротекторное средство из артишока колючего

Е.Е.Зацепина, И.Л.Лулева

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Наряду с понятием «персонализированная медицина» (personalized medicine), для обозначения индивидуализации лечения применяют и другие термины, в том числе «медицина под заказчика» (tailored medicine), «предсказательная медицина» (predictive medicine) и «геномная медицина» (genomic medicine).

Цель персонализированной медицины состоит в том, чтобы найти не только подходящий лекарственный препарат для конкретного больного, но и даже разработать схему лечения пациента в соответствии с его генотипом. В более широком смысле персонализированная медицина представляет собой интегральную медицину, базирующуюся на разработках персонализированных средств лечения и профилактики на основе генов, предрасположенности к болезням, объединение диагностики и мониторинга лечения.

Цель. В биохимических исследованиях для изучения влияния веществ на функции печени, где наиболее активно осуществляются ферментативные превращения ксенобиотиков, чаще всего определяют такие показатели, как содержание в гомогенате печени гликогена и триглицеридов, а также содержание в сыворотке крови общего билирубина, активных продуктов взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой, щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы.

Материалы и методы

Была использована модель интоксикации животных, вызванной четырёхло-

ристым углеродом, и при последующем введении животным исследуемого экстракта артишока колючего или препарата сравнения «Хофитол».

Результаты и их обсуждение

Анализируя данные, можно отметить, что интоксикация животных четырёхлористым углеродом вызывает снижение содержания гликогена в печени и увеличение содержания триглицеридов в печени, общего билирубина, активных продуктов взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой, щелочной фосфатазой в сыворотке крови; на активность аланинаминотрансферазы в крови интоксикация не проявлялась. Введение животным исследуемого экстракта из листьев артишока колючего на фоне интоксикации стабилизировало все показатели до уровня интактных животных: повысилось содержание гликогена в печени и снизилось содержание триглицеридов в печени, общего билирубина, продуктов взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой, щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы в сыворотке крови.

Выводы

Следует отметить, что исследуемый водный сухой экстракт оказал гепатопротекторную активность на уровне влияния препарата сравнения «Хофитол». Далее проводилось исследование влияния экстракта из листьев артишока колючего на желчевыделение в

сравнении с лекарственным препаратом «Хофитол» в опытах *in vivo*. Результаты исследования желчегонной активности свидетельствует о том, что водный сухой экстракт из листьев артишока колючего способствует выделению желчи у крыс и эта активность находится на уровне действия, не уступающему препарату сравнения «Хофитол». Таким образом, расширение ассортимента гепатопротекторных препаратов на растительной основе позволяет увеличить свободу выбора для назначения врачей с учетом индивидуальных особенностей организма больного.

Список литературы

1. Гомеопатические лекарственные средства, разрашённые к медицинскому применению на территории Российской Федерации: учебно-справочное пособие / под ред. *Т.Л. Киселевой*. – М.: АОЗТ «Велес», 2000.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание (по состоянию на 31 марта 2001 г.) – М., 2001. – Т.1. - 1277 с.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – 2-е изд., перер. и доп./ Под ред. *Р.У. Хабриева*. – М.: Медицина, 2005. – С.41-47.

Моделирование строфантиновой аритмии на наркотизированных крысах

М.Н.Ивашев, Т.А.Скоробогатова, В.И.Панцуркин

*Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск
Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь*

В настоящее время принято использовать модели аритмий, либо приближающиеся к ситуациям, которые возникают в клинических условиях, либо имитируют определенные аритмии. Примером первого варианта модели является нарушения ритма, вызванные высокими дозами оубаина или строфантина К. Возникающая при этом аритмия моделирует нарушения сердечного ритма в клинике при передозировке сердечных гликозидов. Одним из официальных методов исследования противоаритмической активности является модель строфантиновой аритмии, описанная в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому)

изучению новых фармакологических веществ» (под редакцией В.П.Фисенко, П.А. Галенко-Ярошевского).

Цель. Модифицировать строфантиновую модель аритмической болезни сердца у животных для последующего изучения лечебного действия потенциальных антиаритмических средств.

Материалы и методы

Строфантиновую аритмию получали в опытах на наркотизированных крысах линии Wistar, которым вводили в яремную вену строфантин «К» в дозах 0,05 мг/кг, 0,15 мг/кг, 0,5 мг/кг и 1 мг/кг. На-

рушения сердечного ритма начинались с появления брадикардии и блока атриовентрикулярного проведения, на фоне которых появлялись сначала отдельные экстрасистолы, которые затем переходили в политопную экстрасистолию. Аритмия продолжалась 15-20 минут. ЭКГ регистрировали во II стандартном отведении каждые 1-5 минут до 60 минут.

Результаты и их обсуждение

При введении строфантина «К» в низких дозах 0,05 мг/кг и 0,15 мг/кг наблюдали относительное изменение регулярности и числа сердечных сокращений. Незначительные изменения структуры зубца Р и деформацию QRS-комплекса. При использовании строфантина «К» в дозе 0,5 мг/кг на 1-й минуте регистрации данных у крыс увеличивалась частота сердечных сокращений на 15,2% относительно исхода, к 6-10 минуте у животных развивалась брадикардия, переходящая к 15-20 минуте в политопную экстрасистолию. Частота сердечных сокращений нормализовалась к 40-50 минуте. При введении строфантина «К» в дозе 1 мг/кг наблюдалось увеличение частоты сердечных сокращений на 1-ой минуте до 19,7% относительно исхода, к 20-30 минуте частота сердечных сокращений уменьшалась и переходила к 50-60 минуте в бради-

кардию (полученные данные достоверны $p < 0,05$). Величина зубцов, ширина и высота QRS-комплекса изменялась на протяжении всего эксперимента.

Выводы

Таким образом, предлагаемая доза 0,5 мг/кг строфантина наиболее подходит для изучения потенциально активных лекарственных средств при моделировании аритмии, приближающейся к ситуации в клинических условиях при передозировке сердечными гликозидами.

Список литературы

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. В. П. Фисенко. Москва. 2000. – 378 с.
2. *Галенко-Ярошевский П.А., Гацура В.В.* Методы поиска и доклинического исследования специфической активности потенциальных сердечно-сосудистых средств. Краснодар: Просвещение-Юг, 2005. – 249 с.
3. *Скоробогатова Т.А., Панцуркин В.И., Ивашев М.Н.* Антиаритмическое действие анилокаина при адреналиновой и хлоридкальциевой аритмиях. Пятигорск. 2010. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – 506-507 с.

Производные изотиомочевинны – новые антигипотензивные препараты

Я.Г.Корецкий

Государственный университет медицины и фармации им. Н.Тестемичану, Кишинев, Республика Молдова

Производные изотиомочевинны представляют новую группу фармакологически активных веществ. Среди них имеются препараты, обладающие гипертензивными и антигипотензивными свойствами, как изотурон, дифетур, метиферон и др.

В отличие от адреномиметиков эти препараты обладают гипогликемическим и противоаритмическим эффектами, снижают потребление кислорода организмом и температуру тела, повышают уровень артериального давления на фоне действия ганглиоблокаторов и α -адреноблокаторов и др.

Производные изотиомочевинны, имеющие структуральные сходства с гуанидиновыми и амидиновыми соединениями, являются ингибиторами NO-синтетазы.

Цель. Определение гипертензивного и противогипотензивного действия профетура; определение влияния профетура на потребление кислорода организмом; выявление возможного механизма действия производных изотиомочевинны на сосудистый тонус.

Материалы и методы

Гипертензивное и антигипотензивное действие профетура было изучено экспериментально на 20 наркотизированных уретаном (1-1,2 г/кг) кошках, с массой тела в пределах 1,5-4 кг, распределённых в две группы. Животным из первой группы (10 кошек), профетур вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг, а второй

(10 кошек) – в дозе 10 мг/кг на фоне действия гексаметония (10 мг/кг). В опытах с изучением гипертензивного действия изменение уровня артериального давления, частоты сердечных сокращений и частоты дыхательных движений регистрировались до введения препарата, на 2-й и каждые 15 мин. после инъекции препарата, до восстановления начального уровня артериального давления. Мониторизация в опытах с изучением антигипотензивного действия проводилась до и на второй минуте после введения гексаметония, на 2-й и каждые 15 мин. после инъекции профетура в течение 60 минут.

Опыты для определения влияния профетура на потребление кислорода организмом крыс ставились на двух группах животных, по 10 крыс в каждой. Животным первой группы (контрольная) вводили внутривенно 3 мл физиологического раствора, а второй – 3 мл раствора профетура из расчета 20 мг/кг. Измерение потребления кислорода (мл/кг/мин) проводилось до инъекции, а также в различные сроки после введения препарата.

Полученные данные были обработаны статистически.

Изучение возможного механизма сосудосуживающего действия производных изотиомочевинны проводилось на кольцах аорты с использованием раствора KCl (120 мМ), фенилэфрина (10-5М) и L-аргинина (10-5М).

Результаты и их обсуждение

При внутривенном введении профетура в дозе 10 мг/кг уровень артериального давления на 2-й минуте повысился с $113,4 \pm 7,1$ мм рт. ст. до 181 ± 8 мм рт. ст., то есть на 59,6% по сравнению с исходными данными. Продолжительность гипертензивного эффекта составила более 1,5 часа.

После введения профетура на фоне действия гексаметония, уже на 2-й минуте, уровень артериального давления повысился с $43,9 \pm 6,2$ до $103,4 \pm 7,8$ мм рт. ст., то есть на 135,5% по сравнению с данными, полученными при применении ганглиоблокатора.

Полученные результаты показали, что испытуемый препарат профетура обладает выраженным гипертензивным и антигипотензивным действием.

Потребление кислорода организмом при применении профетура снижается уже на 10-й минуте, достигая на 90-й минуте 65% от начального уровня.

На фоне действия L-аргинина, фенилэфрин осуществляет лишь $21,84 \pm 2,2\%$ от своего исходного уровня сокращения колец аорты, в то время как производный изотиомочевины способствует увеличению сокращения вызванного фенилэфрином и устраняет эффект L-аргинина.

Выводы

1. Профетура обладает выраженным гипертензивным и антигипотензивным действием.
2. Профетура снижает потребление кислорода организмом.
3. Производные изотиомочевины угнетают NO-синтазу.

Доклиническая фармакологическая оценка мутагенных свойств субстанции коэнзима Q10

А.Л.Коротаева, В.П.Левицкая, О.Л.Малиновская

Лаборатория лекарственной токсикологии НИИ экспериментальной кардиологии ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава России», Москва

С каждым годом существенно возрастает количество публикаций, содержащих результаты экспериментального изучения и успешного применения коэнзима Q10 при различной патологии. Коэнзим Q10 относится к витаминоподобным веществам. Наиболее изученной функцией коэнзима Q10 в живых организмах является его участие в работе дыхательной электрон-транспортной цепи (Mitchell P, 1976) Другой важнейшей функцией коэнзима Q10 в организме является антиоксидантная защита. Коэн-

зима Q10 – единственный липидорастворимый антиоксидант, способный синтезироваться в организме человека и животных, а также постоянно регенерироваться из окисленной формы с помощью ферментных систем (Mellors et al, 1966). Важность вышеуказанных свойств коэнзима Q10 для процессов жизнедеятельности клеток различных органов, особенно таких высокоэнергопотребляющих как сердце, привлекает внимание возможностью клинического применения коэнзима Q10 в комплексной тера-

пии заболеваний сердечно-сосудистой системы, требующей длительных назначений препаратов.

Цель работы – изучить мутагенные свойства субстанции коэнзима Q10 (Кудесан, ЗАО «Аквион») путем учета генных мутаций на микроорганизмах в тесте Эймса, учета доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей, учета хромосомных аббераций в клетках костного мозга млекопитающих и изучением ДНК-повреждающего действия в SOS-хромотесте.

Материалы и методы

При учете генных мутаций на микроорганизмах в тесте Эймса использован чашечный метод учета мутаций, предложенный Ames et al (1984) в модификации, описанной в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Москва, 2000), рекомендованном фармакологическим государственным комитетом МЗ РФ по тестированию препаратов на стадии их доклинического изучения. В качестве индикаторных микроорганизмов использовали штаммы *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1537. Исследовали концентрации препарата от 0,1 до 1000 мкг на чашку.

Эксперименты по учету доминантных летальных мутаций проводили в зародышевых клетках мышей-гибридов F1 (СВАхС57В16). Исследуемая субстанция вводилась самцам внутрижелудочно однократно, в дозе 300 мкг/кг, в 100 раз превышающей рекомендуемую высшую суточную.

С целью учета хромосомных аббераций в клетках костного мозга млекопитающих были проведены эксперименты на мышах-гибридах F1 (СВАхС57В16).

Препарат вводили внутрижелудочно в дозе 300 мг/кг (однократно) и 30 мг/кг (4 дня). Животных забивали через 6 часов после последнего введения препарата. За один час до забоя мышам внутрибрюшинно вводили колхицин («SERVA») в дозе 4,8 мкг/кг. Метафазы в клетках костного мозга анализировали на наличие в них хромосомных аббераций по рекомендациям ВОЗ.

SOS-хромотест проведен с помощью автоматического микробиологического анализатора «Биоскрин» (Labsystems, Финляндия). Была проверена возможность исследуемого препарата активировать SOS-систему как в условиях метаболической активации микросомальной фракции печени крыс (S9), так и без нее. Исследовали 10 концентраций препарата в разведении 1/2 (максимальная концентрация 5 мг/мл).

Результаты и их обсуждение

При учете генных мутаций на микроорганизмах в тесте Эймса показано, что коэнзим Q10 в исследуемых концентрациях не вызывает увеличения количества ревертантов в используемых штаммах.

В результате оценки потенциально мутагенных свойств коэнзима Q10 в экспериментах по учету доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей-гибридов F1 (СВАхС57В16) показано, что уровень постимплантационных потерь у животных, подвергшихся воздействию субстанции препарата, не превышал данные показатели у животных контрольных групп в стадии зрелых спермиев и поздних сперматидов.

Результаты учета хромосомных аббераций в клетках костного мозга мышей-

гибридов F1 (СВАхС57В16) не выявили статистически достоверных различий в уровне хромосомных аббераций в клетках костного мозга мышей, подвергшихся воздействию коэнзима Q10 в испытанных дозах, по сравнению с контролем.

С целью изучения влияния Кудесана на систему репарации ДНК был проведен SOS-хромотест с помощью автоматического микробиологического анализатора «Биоскрин» (Labsystems, Финляндия). Была проверена способность исследуемого препарата активировать SOS-систему как в условиях метаболической активации микросомальной фракции печени крыс (S9), так и без нее. Исследовали 10 концентраций препарата в разведении 1/2 (максимальная концентрация 5 мг/мл).

Результаты SOS-хромотеста показали, что коэнзим Q10 ни в одной из исследованных концентраций не вызывает активации системы репарации ДНК у *E.coli* PQ37, т.е. не обладает ДНК-повреждающим действием, и, следовательно, не является потенциальным канцерогеном.

Выводы

В результате проведенных исследований установлено, что коэнзим Q10 ни в одном из испытанных тестов не проявляет мутагенных свойств, не обладает ДНК-повреждающим действием и, следовательно, не является потенциальным канцерогеном.

Определение раздражающего действия и острой токсичности иммобилизованных форм бактерий

А.В.Корочинский, И.А.Савенко, А.В.Сергиенко, М.Н.Ивашев

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Одним из главных механизмов защиты от колонизации условно патогенными микроорганизмами является присутствие в биотопе эндогенной микрофлоры. Очень важным фактором защиты является и то, что представители нормофлоры продуцируют бактериоцины, лизоцим и другие, биологически активные и антибиотикоподобные вещества, обуславливающие антагонистическую активность этих бактерий. Важнейшим механизмом колонизационной резистентности является конкурентоспособность микроорганизмов за область обитания – экологическую нишу [1].

В настоящее время дисбактериозы кишечника в разных формах встречаются

достаточно часто не только при острых и хронических заболеваниях ЖКТ, но и при других болезнях [3].

Биологические бактериальные препараты – пробиотики являются наиболее физиологичными для коррекции микрофлоры и профилактики дисбиотических изменений.

Дозирование препаратов варьирует в пределах от 1×10^7 до 1×10^{10} КОЕ. Внесение столь высокого количества стартовых культур связано с негативным воздействием губительных факторов различного генеза. Решить данную проблему можно посредством использования адсорбционной и пространственной иммобилизации бактерий в мягких услови-

ях, что позволяет сохранить их жизне-способность и осуществить должный терапевтический эффект [2].

Все это определило направление наших исследований по фармакологическому обоснованию и экспериментальному доказательству лечебной эффективности бактерий (*Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*) иммобилизованных альгинатом кальция и иммобилизованных бактерий, адсорбированных на активированном угле [2].

Цель. Определение раздражающего действия и острой токсичности бактерий (*Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*) иммобилизованных на различных носителях.

Материалы и методы

Объект исследования – субстанция иммобилизованных бактерий, которая в настоящее время не считается лекарственным средством. Контроль – изотонический раствор натрия хлорида. Исследования проведены *in situ* на куриных эмбрионах белых кур породы Leggorn возрастом 9-10 суток. Опыты *in vivo* проводились на белых неимбредных мышцах массой $22 \pm 2,0$ г и морских свинок массой 380 ± 30 г, прошедших 2-х недельный карантин [4]. Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария Пятигорской государственной фармацевтической академии: температура окружающего воздуха $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Комбинированный корм и воду животные получали *ad libitum*. Острая токсичность иммобилизованных бактерий определялась на мышцах по Керберу с дефиницией LD50. Ввиду плохой растворимости лекарственной формы в воде, иммобилизованные бактерии вводили в два приема в объеме воды 0,5 мл

на 1 мышшь с интервалом в 1 час. Изучение раздражающей активности проводилось на хорионаллантоисной оболочке куриных эмбрионов: оценка сердцебиения, кровотока и состояние сосудов хорионаллантоисной оболочки, а также *in vivo* на переднем сегменте глаза морских свинок (по схеме Spielmann и соавт. (1996): индекс раздражающего действия оценивали интегрально - суммировали степень отека и покраснения (гиперемии). Результаты раздражения конъюнктивы млекопитающих регистрировали в баллах по 5-бальной шкале, согласно рекомендациям П. Михайлова (1985 г.). Полученные результаты необходимы для проведения дальнейших экспериментов на наличие специфической активности бактерий (*Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*), иммобилизованных на различных носителях. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента, в пакете компьютерной программы Microsoft Excel Ver 9, 2000.

Результаты и их обсуждение

Проведенное исследование позволило выявить влияние бактерий иммобилизованных альгинатом кальция и иммобилизованных бактерий, адсорбированных на активированном угле на общее состояние организма, функциональное состояние основных физиологических систем. При исследовании острой токсичности в течение первых 2 часов в дозировке 5000 мг/кг не наблюдалось изменений со стороны психической деятельности животных, снижения двигательной активности и потребления воды и пищи не происходило. К окончанию первых суток животные не отличались по внешнему виду и характеру поведения от животных кон-

трольной группы (изотонический раствор натрия хлорида). Проведенные в течение последующих двух недель наблюдения за двигательной активностью, наличием судорог, координацией движений, реакцией на раздражители, тонусом скелетной мускулатуры, дыханием, состоянием кожного покрова, шерсти и окраской видимых слизистых оболочек, потреблением воды и пищи, массой тела не выявили заметных отклонений по сравнению с контрольной группой животных. Исследования продемонстрировали, что лекарственная форма с содержанием бактерий иммобилизованных альгинатом кальция и иммобилизованных бактерий, адсорбированных на активированном угле по Hodge и Sterner и классификации К.К.Сидорова может быть отнесена к практически нетоксичным препаратам. $LD_{50} > 5000$ мл/кг.

При нанесении на хорионаллантоисную оболочку куриных эмбрионов бактерий, иммобилизованных альгинатом кальция, и иммобилизованных бактерий, адсорбированных на активированном угле, в 90% случаев наблюдалась не нарушенная прозрачная тонкая оболочка с нормально функционирующей сетью кровеносных сосудов и капилляров. Это позволило, согласно классификации веществ по степени раздражения, отнести данные лекарственные формы иммобилизованных бактерий к I-му классу соединений. При нанесении лекарственной формы на слизистые оболочки глаза морских свинок обнаружили слабое раздражающее действие.

Выводы

Таким образом, в результате проведенного эксперимента получено токсикологическое подтверждение безопасности использования бактерий (*Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*), иммобилизованных альгинатом кальция и иммобилизованных бактерий, адсорбированных на активированном угле. Проявлений острой токсичности и раздражающего действия исследованных лекарственных форм не обнаружено, в связи с чем существует перспектива для дальнейшего их изучения в качестве лекарственных средств, нормализующих микрофлору кишечника на моделях экспериментальной патологии лабораторных животных.

Список литературы

1. **Бондаренко В.М.** Метаболитные пробиотики: механизмы терапевтического эффекта при микрoэкологических нарушениях. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – № 3. – с. 83-87.
2. **Верниковский В.В., Корочинский А.В., Степанова Э.Ф.** Изучение технологических свойств гранул поперечноштитого альгината, используемых в качестве носителей иммобилизованных клеток. // Вестник новых экспериментальных технологий. – 2009 – Т.ХVI, № 4 – с.93.
3. **Топчий Н.В.** Проблема дисбиоза в общей врачебной (семейной) практике. // Фарматека. – 2007. – №8-9. – с. 59-66.
4. **Сернов Л.Н., Гацура В.В.** Элементы экспериментальной фармакологии // М., 2000. –3 51с.

Влияние α -липоевой кислоты на изменения системы глутатиона, вызванные химиотерапией

В.С.Лалетин, Л.С.Колесниченко

Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск

Развитие злокачественных новообразований в организме сопровождается оксидативным стрессом (избыточное образование АФК). Гомеостаз системы глутатиона, играет центральную роль в защите тканей от оксидативного стресса в силу ряда причин: 1) глутатион – главный восстановитель клетки (его концентрация выше, чем большинства органических веществ); 2) глутатион обезвреживает как АФК, так и вторичные метаболиты ОМ; 3) глутатион-зависимые ферменты работают во всех частях клетки (включая ядро, митохондрии и эндоплазматический ретикулум). Важно учитывать влияние химиотерапии на состояние системы глутатиона, повреждение которой будет способствовать активации ОС.

Необходимо знать, каким образом можно предотвратить неблагоприятные изменения в системе глутатиона. Для увеличения уровня глутатиона само по себе применение глутатиона не эффективно. Среди препаратов, влияющих на редокс-системы организма, особое место занимает α -липоевая кислота (α -ЛК). α -Липоевая кислота имеет ряд преимуществ: 1) α -ЛК может быть восстановлена в организме в активную дитиольную форму такими ферментами как глутатионредуктаза, тиоредокстредуктаза и липоамиддегидрогеназа; 2) α -ЛК растворима как в воде, так и в жирах (уникальная черта среди антиоксидантов); 3) благодаря редокс - потенциалу системы липоат/дигидролипоеат α -ЛК принима-

ет участие как в реакциях нейтрализации АФК, так и в реакциях восстановления окисленных форм других антиоксидантов, в т.ч. и окисленного глутатиона, а при длительном применении α -ЛК отмечается увеличение уровня общего глутатиона в тканях.

Цель работы. Целью эксперимента было исследование изменений в системе глутатиона при воздействии противоопухолевых препаратов отдельно и в сочетании с α -ЛК.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на 60 мышах обоего пола. В ходе эксперимента мышам однократно интраперитонеально вводили алкиляторы карбоплатин 5 мг/кг и циклофосфамид 150 мг/кг, антиметаболит метотрексат 150 мг/кг, антибиотик эпирубицин 10 мг/кг и в половине серий липоевую кислоту 100 мг/кг. Концентрацию GSH и активность трёх главных ферментов его метаболизма: глутатионтрансферазы (ГТ), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР) определяли стандартными спектрофотометрическими методами. Результаты статистически обработаны с использованием критериев F, t Стьюдента и t Велча. Описаны только значимые изменения ($p < 0,05$). Измерения проводились в 72 часа в силу того, что именно в ранние сроки происходят наибольшие изменения системы глутатиона и массы органов; и именно в ранние сроки целе-

сообразно введение ЛК для предотвращения неблагоприятных влияний. В более поздние же сроки, на 14 сутки после введения химиопрепаратов, отмечались минимальные изменения в системе глутатиона и отсутствие атрофии органов.

Результаты и их обсуждение

Введение всех четырех химиопрепаратов без α -ЛК через 72 часа сопровождалось снижением массы печени на 11-31%, селезенки на 48-51%, почек на 10-26% и сердца на 14-36%, что является показателем выраженного токсического эффекта.

Концентрация глутатиона также снижалась в каждом эксперименте на 18-38%. Активность ферментов изменялась следующим образом: 1) активность ГПО возрастала при введении эпирубина на 19% и метотрексата на 115% и снижалась при введении циклофосфида на 53%; 2) эпирубин на 53%, карбоплатин на 47% и метотрексат на 37% снижали активность ГТ, тогда как циклофосфид повышал его активность на 46%; 3) активность ГР снижалась при введении метотрексата на 22 % и возрастала при применении циклофосфида на 83%.

Таким образом, несмотря на то, что активация ГПО при введении эпирубина и метотрексата и ГТ и ГР при вве-

дении циклофосфида являются благоприятными защитными реакциями, химиотерапия приводит к дестабилизации системы глутатиона в целом.

Введение α -ЛК сопровождалось возрастанием активности ГПО и ГР, но не изменяло концентрацию глутатиона.

При совместном введении противоопухолевых препаратов и α -ЛК наблюдались следующие изменения: 1) введение α -ЛК с эпирубином и карбоплатином нормализовало сниженную активность ГТ; 2) введение ЛК с метотрексатом было сопряжено с увеличением активности ГТ и ГР и снижением активности ГПО до нормального уровня; 3) введение ЛК с циклофосфидом приводило к возрастанию активности ГПО, нормализации активности ГТ и ГР и возрастанием концентрации глутатиона по сравнению с введением химиопрепарата без ЛК; 4) атрофия органов предотвращалась во всех экспериментах с ЛК.

Выводы

Выявлены два ранее не описанных эффекта: 1) нормализация активности ферментов метаболизма глутатиона; 2) предотвращение атрофии органов. Следовательно, мы можем говорить о стабилизации системы глутатиона при совместном введении химиопрепаратов с ЛК.

Коррекция дисбиотических нарушений при использовании средства интимной гигиены «Фемивит»

Л.П.Ларионов, Н.А.Забокрицкий, М.А.Бакуринских, А.Б.Бакуринских

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург
Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

Использование в лечебной практике биопрепаратов из живых бактерий – медицинских иммунологических препаратов, антагонистически активных в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и не оказывающих отрицательного влияния на представителей нормальной микрофлоры – новое стратегическое направление в терапии и профилактике инфекционных болезней и патологических состояний, связанных с дисбиотическими процессами.

В настоящее время в России применяются микробные составы в виде суспензий, предназначенных для интравагинальной аппликации. Такие суспензии содержат живые культуры лактобацилл («Фемиллакт»), смесь лактобацилл и бифидобактерий – *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum* и *Bacillus longum* [1-4].

Дисбиотические нарушения нормальной вагинальной микрофлоры у беременных приводит к невынашиванию беременности, преждевременным родам, а также к послеродовым инфекционным осложнениям как у матери, так и у новорождённого [2-3].

Цель работы. Разработка нового метода коррекции микрофлоры родовых путей у беременных средством интимной гигиены «Фемивит».

Материалы и методы

Всего было обследовано 80 беременных в сроке 28-32 нед. с угрозой прерывания беременности. Всем пациенткам

были проведены бактериоскопическое, бактериологическое исследование вагинального секрета, аминный тест, определение pH среды. В результате у 52 из 80 беременных были выявлены дисбиотические нарушения вагинальной флоры.

До наступления беременности 59,8% этих женщин получали терапию антибиотиками по поводу различных воспалительных экстрагенитальных и гинекологических заболеваний; 41,3% пользовались контрацептивами (ВМК, спермицидами). У 76,2% беременных имелись хронические воспалительные заболевания половых органов, и 60,9% страдали дисбактериозом кишечника.

Всем беременным было назначено средство интимной гигиены «Фемивит» в виде влагалищных тампонов 1 раз в день в течение 10 дней. Бактериологическое исследование проводилось до применения бактериальных препаратов, на 2-е и 10-е сутки после окончания лечения.

Результаты и их обсуждение

После проведенной терапии отмечен значимый положительный терапевтический эффект, а именно: уменьшение субъективных жалоб, стихание клинических симптомов, снижение величины pH и частоты положительного аминного теста. Одновременно с улучшением клинической картины наблюдались значительные позитивные сдвиги в количественном и качественном составе микрофлоры (табл. 1-2).

Таблица 1

Влияние средства интимной гигиены «Фемивит» на частоту выявления микроорганизмов в вагинальном секрете беременных с бактериальным вагинозом

Вид микроорганизмов	Частота обнаружения (%)	
	До применения Фемивита	После применения Фемивита
Бифидобактерии	23,9	67,2*
Лактобактерии	57,3	100,0*
Энтеробактерии	36,8	34,2
Энтерококки	82,7	49,6*
Неспорообразующие анаэробы	100,0	100,0
Стрептококки	86,2	73,8*
Стафилококки	100,0	78,2*
Клостридии	28,5	13,6*
Гарднереллы	87,4	79,3
грибы рода Candida	58,7	49,4*

Примечание: * результат статистически достоверен при $p < 0,05$

Таблица 2

Влияние средства интимной гигиены «Фемивит» на вагинальный микробиологический состав у беременных с дисбактериозами ($M \pm m$), $n=52$

Вид микроорганизмов	Количество микроорганизмов в исследуемом материале, lg КОЕ/г	
	До применения Фемивита	После применения Фемивита
Бифидобактерии	4,3±0,4	6,0±0,2*
Лактобактерии	4,8±0,3	11,7±0,6*
Энтеробактерии	4,2±0,2	1,9±0,1*
Энтерококки	3,9±0,1	2,2±0,2*
Неспорообразующие анаэробы	7,2±0,3	4,1±0,2*
Стрептококки	5,5±0,4	2,1±0,1*
Стафилококки	6,9±0,5	3,8±0,3*
Клостридии	4,6±0,2	3,2±0,1*
Гарднереллы	7,9±0,6	4,8±0,4*
грибы рода Candida	4,2±0,3	3,3±0,4*

Примечание: * результат статистически достоверен при $p < 0,05$

Выводы

Таким образом, можно сделать вывод, что комплексное терапевтическое применение иммунобиологических препаратов способствует восстановлению вагинальной микрофлоры. Дальнейшее клиническое наблюдение показало, что в 94,2% случаев у женщин, получавших бактериальные препараты, беременность закончилась своевременными родами. Полученные данные свидетельствуют об эффективности бактериальных препаратов в лечении бактериального вагиноза у беременных.

Список литературы

1. **Кориунов В.М., Ефимов Б.А., Пикина А.П.** Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррек-

ции микрофлоры кишечника // Ж. микробиол. – 2000. – № 3. – С.86-91.

2. **Кориунова О.В.** Вагинальные дисбактериозы и их коррекции с помощью новых биотерапевтических препаратов: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. – М., 2000.

3. **Макаров О.В., Володин Н.Н., Кориунова О.В. и др.** Коррекция вагинальной микрофлоры у беременных женщин с помощью препаратов-пробиотиков // Сб. науч. Трудов XI Съезда акуш.-гинеколог. Северного Кавказа. – Ростов-на-Дону, 1998. – С.181-182.

4. **Самарцев А.А., Астапович Н.И., Новик Г.И.** Особенности роста и образования внеклеточных протеиназ *Bifidobacterium adolescentis* 94-БИМ // Микробиология. – 1997. – Т.66. – № 5. – С.635-639.

К вопросу о создании лекарственного препарата на основе полисциаса кустарникового

Нгуен Чи Тхань

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

Полисциас кустарниковый (*Polyscias fruticosa*) обладает широким спектром фармакологической активности. Полисциас кустарниковый относится к семейству аралиевых; к этому семейству относятся женьшень, аралия, элеутерококк.

В традиционной вьетнамской медицине экстракты *P.fruticosa* употребляют для усиления лактации, для заживления открытых ран, в качестве антидиабетического средства и, в сочетании с другими лекарствами, используются против невралгии и ревматизма. На Кубе то же растение (*P.fruticosa*) чаще называют кустарниковым женьшенем (*Panax fruticosus*) и оно почитается как «эликсир жизни». В северном Таиланде экстракты *P. fruticosa* используют для снятия болей

в спине. В экспериментах на стареющих крысах и мышах этанольные экстракты этого растения, которое во Вьетнаме называют *Dinh Lang*, увеличивают продолжительность жизни животных.

В России был изучен кустарник этого семейства, очень близкий к полисциас кустарниковый вид – *Polyscias folicifolia* (полисциас папоротниколистный). В 1996 г. экстракт биомассы полисциас папоротниколистный под коммерческим названием «Витагмал» был разрешен к применению в качестве парафармацевтической, т.е. обладающей лечебно-профилактическими свойствами пищевой добавки. Считают целесообразным создание лекарственных средств на основе полисциаса.

Список литературы

1. Вьетнамская фармакопея / под ред. Проф. *До Там Лой* – 2004 г.

2. Электронный журнал «Ценные лекарственные растения». Фармакология. *Ван Ву*. <http://www.vitagmal.ru/download/vitagmal-history-creation.pdf>.

Исследование противовоспалительной активности производных хиназолинона-4 и их ациклических форм

Э.Т.Оганесян¹, И.П.Кодониди¹, Т.А.Лысенко¹, А.В.Ивченко¹,
Д.С.Золотых¹, А.В.Бичеров²

¹ – Пятигорская государственная фармацевтическая академия Росздрова, Пятигорск

² – НИИФОХ Южного федерального университета, Ростов-на-Дону

На фармацевтическом рынке значительно востребованы противовоспалительные лекарственные препараты. Одними из основных механизмов противовоспалительной активности лекарственных препаратов является ингибирование ферментов ЦОГ 1 и ЦОГ2. Ингибиторы ЦОГ-1 и 2 принадлежат к разным группам химических соединений. Описаны экспериментальные исследования, свидетельствующие о том, что производные хиназолинона-4 являются перспективными с точки зрения целенаправленного поиска на их основе новых НПВС [1, 2, 5].

Цель работы. Провести фармакологические исследования противовоспалительной активности новых производных хиназолинона-4 и их ациклических предшественников и на основе этого оценить достоверность прогноза.

Материалы и методы

Нами синтезированы 4 новых производных фенилхиназолинона-4 (лабораторные шифры QPhGG, QPhAV, QPhGT и QPhNH). Первые три соединения содержат остатки дипептидов (=N-R); последнее представляет собой ядро 2-фенилхиназолинона-4 без заместителя в 3-м положении (=NH). Полу-

чены также два производных 2-метил-6,7-диметоксихиназолинона-4 (лабораторные шифры QM6,7OMGG и QM6,7OMpAB). Кроме циклических производных хиназолинона-4 были получены их ациклические предшественники с остатками алифатических и ароматических аминокислот (лабораторные шифры NcQPhGAB – с остатком гамма-аминомасляной кислоты, NcQPhpAB, NcQPhoAB и NcQPhmAB – с остатками п-, о-, м-аминобензойных кислот).

На первом этапе исследования нами создана математическая модель противовоспалительной активности на основе методов молекулярного моделирования (молекулярный докинг, молекулярные дескрипторы)[2]. Проведен молекулярный докинг тестовой выборки известных производных хиназолинона-4 с описанной биологической активностью, а также исследуемых соединений с молекулой циклооксигеназы 1 и циклооксигеназы 2. Модели макромолекул взяты из базы белков RCSB Protein Data Base (<http://www.pdb.org>). Для докинга использовали полнофункциональную демо-версию программы Molegro Virtual Docker, в которой реализован генетический алгоритм поиска оптимальной конформации фермент-лиганд; в ней также возможно проведение гиб-

кого докинга, учитывающего подвижность как лиганда, так и наиболее важных аминокислотных остатков в активном центре макромолекулы. Полученные значения энергии взаимодействия использовались в построении математической модели в качестве одного из дескрипторов. Для изученных соединений с помощью этой модели было выбрано соединение-лидер QPhGT.

Следующим этапом нашей работы явилось проведение фармакологических исследований. Для создания модели воспаления использовали метод ватной гранулемы [1]. У белых крыс линии Вистар массой 220-250 г, находящихся под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг), в области спины выстригалась шерсть. В асептических условиях ножницами делался разрез кожи и подкожной клетчатки длиной около 1 см, после чего

пинцетом в подкожной клетчатке через разрез формировалась полость, куда помещался стерильный ватный шарик массой 15 мг. На рану накладывались два шва. На восьмые сутки после начала опыта имплантированный шарик с образовавшейся вокруг нее грануляционной тканью извлекался, взвешивался, затем высушивался до постоянной массы при 60-65°C. О величине экссудативной фазы воспаления судили по разнице в массе (мг) шарика до и после высушивания, о величине пролиферативной фазы – по разнице в массе (мг) высушенного шарика с его исходной массой 15 мг. Изучаемые вещества вводили внутривентриально в дозе 20 мг/кг. Препаратами сравнения служили индометацин и кетонал. В эксперименте на одно вещество использовали по 6 животных.

Таблица

Противовоспалительная активность производных хиназолинона-4, их ациклических форм и препаратов сравнения

	Экссудация	Пролиферация
*контроль	397±11,2	98,5±12,15
#индометацин	280±2,19	50,33±4,26
\$кетонал	326,5±1,35	48,67±5,1
QPhGG	214,5±3,87*#\$	55,5±4,59*
QM6,7OMGG	225±2,7*#\$	60,5±1,89*
NcQPhGAB	291,33±17,8*	60±3,6*
QPhGT	201,17±6,09*#\$	45±4,32*
QphAV	214±4,14*#\$	46,33±2,64
QM6,7OMpAB	214,5±4,95*#\$	44,17±2,49*
NcQPhmAB	290,83±13,5*\$	67,83±7,05
NcQPhoAB	284,83±10,29*\$	55,5±2,43
NcQPhpAB	256,33±10,56*\$	51,83±2,91*
QPhNH	237,2±5,37*#\$	32,2±4,11*#

Примечание: * – Достоверно относительно контроля (p<0,05)

– Достоверно относительно индометацина (p<0,05)

\$ – Достоверно относительно кетонала (p<0,05)

Результаты и обсуждение

Результаты исследования противовоспалительной активности синтезированных соединений представлены в таблице.

Из представленных данных видно, что все синтезированные вещества по проявляемой антиэкссудативной активности превышают препарат сравнения – кетонал, тогда как индометацин – все за исключением NcQPhoAB, NcQPhmAB и NcQPhGAB. Нужно отметить, что ациклические формы проявляют меньшую активность по сравнению с циклическими, что еще раз доказывает эффективность использования производных хиназолинона-4 для поиска новых НПВС.

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о том, что соединение QPhGT

обладает максимальной антиэкссудативной активностью, что соответствует ранее проведенному прогнозу.

Список литературы

1. *Сернов, Л.Н.* Элементы экспериментальной фармакологии. /Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М., 2000. – 352 с.
2. *Хельтге Х.-Д.* Молекулярное моделирование: теория и практика/Х.-Д. Хельтге, В. Зиппль, Д. Роньян, Г. Фолькерс. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010 – 318 с.: ил. – (Медицинская химия).
3. Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, Vol. 65 No. 1 pp. 11-20, 2008.
4. E-Journal of Chemistry, 6(4), 1055-1062, 2009.
5. European Journal of Medicinal Chemistry, Volume 44, Issue 1, January, Pages 83-90, 2009.

Применение метода ВЭЖХ для анализа соединений платины в лекарственных препаратах

А.С.Осипов, П.В.Бобылев, А.А.Новак, Е.Б.Нечаева

Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва

Координационные соединения платины II длительное время применяют в медицинской практике для лечения онкологических заболеваний [2]. Цисплатин (цис-изомер диаминодихлорплатины; цис-ДДП) и карбоплатин описаны в Британской и Американской Фармакопеех [3, 4]. За последние десятилетия в Российской Федерации зарегистрированы десятки лекарственных препаратов из данной фармакологической группы. Зарегистрированные лекарственные препараты производятся фармацевтическими фирмами России, Чехии, Румы-

нии, Аргентины, Индии, Германии и ряда других стран.

В нормативных документах на эти препараты, особенно регистрации конца 80-90-х годов, приведены различные методики контроля качества препаратов платины по показателям «количественное содержание» и «однородность дозирования». Однако, необходимо отметить, что в нормативных документах на эти препараты последних лет регистрации приведена унифицированная методика количественного определения, описанная в Европейской и Бри-

танской Фармакопеех. Методика основана на хроматографировании соединений платины в условиях нормально-фазовой хроматографии; сорбент колонок – аминопропилсилил силикагель, подвижная фаза – смесь ацетонитрила и воды в отношении 87:13.

Начиная с 2000 г. в Российской Федерации регистрируются препараты оксалиплатина [4, 5]. Для определения количественного содержания оксалиплатина в лекарственных препаратах применяют различные варианты обращено-фазовой и ион-парной хроматографии. Следует отметить, что методики хроматографирования оксалиплатина на колонках с аминопропилсилил силикагелем в нормативных документах на эти препараты не приведены.

Цель. Исследование возможности применения нормально-фазовой хроматографии на колонках с аминопропилсилил силикагелем для анализа препаратов оксалиплатина, а также доказательство возможности применение этих колонок для определения примеси транс-изомера диаминодихлорплатины (транс-ДДП), поскольку содержание транс-ДДП нормируется в препаратах цисплатина.

Материалы и методы

Работа проводилась с использованием хроматографа «Agilent», серия 1100 с диодно-матричным детектором; производство Agilent Technologies (США).

Хроматографирование осуществляли на колонках: Zorbax NH2 250 × 4,6 мм (5 мкм) производства Agilent Technologies (США), Luna NH2 250 × 4,6 мм (5 мкм) производства Phenomenex (США) и Equisil APS-2 150 × 4,6 мм (3 мкм) производства Dr. Maisch GmbH (Германия). Тип сорбента всех тестируемых колонок

– аминопропилсилил силикагель.

Применяли подвижную фазу: ацетонитрил–вода (9:1), скорость потока – 1,5 мл/мин. Температура 25°C. Образцы вводили в объёме 5 мкл. Детектирование осуществляли при 220 нм и 250 нм (селективное детектирование оксалиплатина). Запись спектров поглощения от 200 до 400 нм. В работе использовали стандартные образцы цисплатина, оксалиплатина и карбоплатина Европейской Фармакопеи.

Результаты и их обсуждение

Хроматографирование на колонках Zorbax NH2 и Luna NH2 применяли для разделения транс-ДДП и цис-ДДП. Коэффициенты емкости (K'), полученные на колонке Zorbax NH2, составили: транс-ДДП – 0,47; цис-ДДП – 1,67; селективность колонки – 3,55. Значение K' анализируемых соединений на колонке Luna NH2: транс-ДДП – 0,76; цис-ДДП – 4,14; селективность сорбента колонки Luna NH2 существенно выше – 5,45. Величина K' цисплатина (цис-ДДП) на колонке Equisil APS-2 – 0,77. Значения K' для оксалиплатина составили: 3,72 – на колонке Zorbax NH2, 4,57 – на колонке Luna NH2 и 1,61 – на колонке Equisil APS-2. Величины K' для карбоплатина составили: 14,97 – на колонке Luna NH2 и 4,81 – на колонке Equisil APS-2. На основании особенностей структурной формулы карбоплатина можно предположить, что при анализе данного соединения на колонке Luna NH2 имеет место смешанный нормально-фазовый и обращено-фазовый механизм разделения. Наилучшая форма пиков анализируемых соединений была получена при хроматографировании на колонке Equisil APS-2 (рис.).

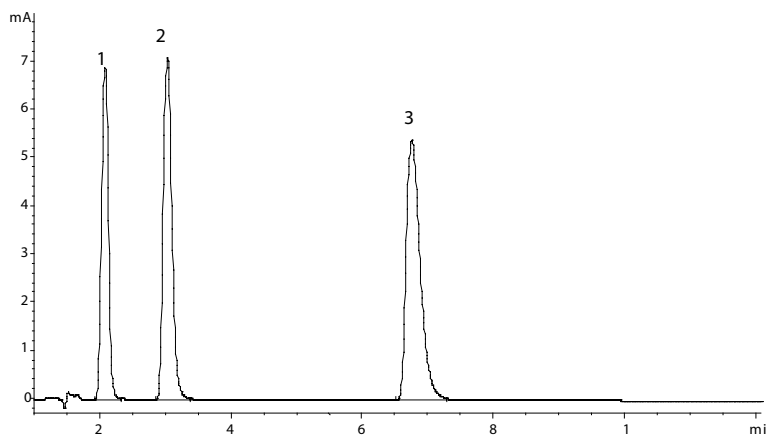


Рис.1. Хроматограмма разделения смеси стандартных образцов координационных соединений платины на колонке Equisil APS-2 150 × 4,6 мм (3 мкм). Условия анализа: подвижная фаза – ацетонитрил – вода (9:1); скорость потока – 1,5 мл/мин; детектирование при 220 нм.

1 – цисплатин, 2 – оксалиплатин, 3 – карбоплатин.

В процессе хроматографирования были записаны спектры поглощения анализируемых соединений. Цисплатин имеет максимумы поглощения 207 нм и 310 нм (существенно меньшей интенсивности). Оксалиплатин имеет два максимума поглощения 207 нм и 250 нм. При хроматографировании карбоплатина с использованием диодноматричного детектора у соединения не было обнаружено выраженных максимумов поглощения.

Выводы

1. Хроматографические колонки на основе аминопилсиллил силикагеля

могут быть использованы для анализа всех лекарственных препаратов (в том числе оксалиплатина) из группы координационных соединений платины. В ходе исследования было выявлено, что колонки весьма существенно отличаются по свойствам при анализе этих соединений.

2. Установлено, что колонка Luna NH₂ обладает наибольшей селективностью к паре транс-ДДП / цис-ДДП, поэтому обладает преимуществом при анализе препаратов цисплатина.

3. Для анализа препаратов карбоплатина наиболее рационально применение колонки Equisil APS-2, поскольку позволяет значительно сократить время анализа.

Список литературы

1. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. М.: Новая волна. Т.2. С 427-429, 2000.
2. The United States Pharmacopoeia XXX ed.
3. British Pharmacopoeia 2007.
4. European Pharmacopoeia ver. 6.8.

Защитные свойства рекомбинантного человеческого белка теплового шока 70 при моделировании грамположительного сепсиса у крыс

В.Ф.Остров¹, М.Б.Евгеньев², А.Н.Мурашев^{1,3}

¹ – Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, Пущино

² – Институт молекулярной биологии Энгельгардта РАН, Москва

³ – Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

Несмотря на достижения современной науки, септический шок остается одной из главных причин смерти пациентов в палатах интенсивной терапии [5]. Следует отметить, что только в США ежегодно регистрируют сепсис примерно у 750,000 пациентов, и почти каждый третий такой случай заканчивается летальным исходом [3]. Это свидетельствует об отсутствии в настоящее время в клинической медицине средств эффективной борьбы с сепсисом.

Сепсис развивается при проникновении в системный кровоток больших количеств бактерий. Примерно в 50% случаев причиной сепсиса являются грамположительные бактерии, из которых наиболее часто в микрофлоре пациентов доминирует *Staphylococcus aureus* [4].

Ведущим звеном патогенеза являются компоненты клеточной стенки бактерий – пептидогликан, тейхоевые, тейхуроновые и липотейхоевые (ЛТК) кислоты. При проникновении в системный кровоток ЛТК связываются с TLR-2 на поверхности моноцитов, нейтрофилов и некоторых других клеток. Запускается синтез и секреция в кровь воспалительных цитокинов, физиологические эффекты которых во многом определяют клиническую картину сепсиса.

Перспективным направлением поиска средств защиты от сепсиса являются белки теплового шока с молекуляр-

ной массой 70 кДа (БТШ70), которые являются универсальным средством защиты клетки от стресса. Известно, что БТШ70 *in vitro* также способны связываться с Toll-like рецепторами. Ранее нами были показаны защитные свойства БТШ70 при моделировании грамотрицательного сепсиса [1]. Предполагается, что эти стресс-белки могут проявлять эти свойства и при грамположительном сепсисе.

Цель. Изучить защитные свойства рекомбинантного человеческого БТШ70 при экспериментальном грамположительном сепсисе у крыс.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на бодрствующих самцах крыс Sprague-Dawley массой тела 300-350 г. Животные содержались в стандартных условиях и получали корм и воду *ad libitum*. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с протоколом, утвержденным институтской комиссией по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных.

Крысам под наркозом имплантировали полиэтиленовые катетеры в яремную вену (для введения веществ) и сонную артерию (для регистрации параметров гемодинамики). Эксперименты проводились спустя 24 часа после хирургической операции.

Сепсис моделировали внутривенным введением ЛТК из *S. aureus* в дозе 2 мг/кг [5]. БТШ70 вводили внутривенно в дозе 266 мкг/кг за 10 минут до ЛТК. Все растворы для введений готовили на основе стерильного 0,9% раствора NaCl. Объем введения веществ составлял 1 мл/кг.

Во время эксперимента артериальный катетер соединяли с электроманометром для регистрации гемодинамики. С помощью компьютеризированной установки регистрировали среднее артериальное давление (ср.АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) непрерывно в течение 30 минут в исходном состоянии и в течение 5 часов после введения ЛТК. Забор крови для определения пара-

Для статистической оценки данных гемодинамики использовали тест Краскела-Уоллиса. Для межгрупповых различий использовали тест Манна-Уитни, а для внутригрупповых – Уилкоксона. При сравнении выживаемости животных применяли тест хи-квадрат. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Внутривенное введение БТШ70 за 10 минут до ЛТК из *E.coli* статистически не отличается от контрольной группой с 0,9% NaCl и достоверно отличается от группы с ЛТК.

Таблица

Выживаемость животных в эксперименте при внутривенном введении: 0,9% NaCl, ЛТК и БТШ70

Группа	Кол-во животных в группе	Кол-во выживших животных в группе	Процент выживаемости в группе, %
0,9% NaCl	10	10	100
ЛТК	10	5	50*
БТШ70	10	9	90 #

Примечание: # - $P < 0,05$ по тесту хи-квадрат относительно группы ЛТК;

* - $P < 0,05$ по тесту хи-квадрат относительно группы 0,9% NaCl.

метров гемостаза и биохимии крови осуществляли в трех временных точках: до введения веществ, через 20 минут и через 5 часов после введения ЛТК. Определяли АЧТВ, протромбиновое время, концентрацию фибриногена и время фибринолиза, а также глюкозу, общий белок, альбумин, триглицериды, креатинин, билирубин. Кроме того, регистрировали выживаемость животных в течение 72 часов после введения ЛТК.

Статистический анализ проводили с помощью программы «STATISTICA».

В то время проведенные исследования параметров гемодинамики, гемостаза и биохимии крови показали защитные эффекты БТШ70. В группе, где животные получали ЛТК, отмечали характерную гипотензию, развитие синдрома ДВС, а также изменение биохимических показателей, характерное для полиорганной недостаточности. В группе, где животные получали БТШ70, не было обнаружено подобного изменения изучаемых параметров.

Выводы

Таким образом, однократное внутривенное БТШ70 за 10 минут до ЛТК предотвращает развитие грамположительного сепсиса. По-видимому, это связано со способностью БТШ70 за счет своей шаперонной активности связывать амфифильные молекулы ЛТК. Однако, спорным и до конца неизученным остается вопрос взаимодействия БТШ70 с TLR-2 и конкурирования с молекулами ЛТК за связывание с этими рецепторами. Несмотря на то, что точный механизм действия остается неизвестным, БТШ70 являются перспективными фармакологическими агентами для борьбы с септическими патологиями.

Список литературы

1. *Остров В.Ф., Слащѳва Г.А., Жармухамедова Т.Ю., Гарбуз Д.Г., Евгенийев*

М.Б., Мурашев А.Н. Влияние рекомбинантного человеческого белка теплового шока HSP70 на биохимические параметры крови при моделировании эндотоксического шока у крыс // Биоорганическая химия, том 36, №3, 337-342, 2010.

2. *Parrillo J.E.* Pathogenetic mechanisms of septic shock // N Engl J Med. 1993; 328(20): 1471-7.

3. *Riedemann N.C., Guo R.F., Ward P.A.* The enigma of sepsis // J Clin Invest. 2003; 112(4): 460-7.

4. *Solomkin J.S.* Antibiotic resistance in postoperative infections // Crit Care Med. 2001; 29(4): 97-9.

5. *Kengatharan K.M., De Kimpe S., Robson C., Thiemermann C.* Mechanism of gram-positive shock: identification of peptidoglycan and lipoteichoic acid moieties essential in the induction of nitric oxide synthase, shock, and multiple organ failure // J Exp Med. 1998; 188(2): 305-15.

Гепатопротекторное воздействие препарата «Неамон-һера» при индуцированном токсическом гепатите

Б.И.Парий, М.П.Тодираш, С.Б.Парий, Л.Г.Руснак, В.В.Валика, М.А.Тома-Кожокару, Л.М.Цуркану

Научный Центр исследования лекарств при Государственном университете медицины и фармации, им. Н.Тестемциану, Кишинев, Республика Молдова

Заболевания печени занимают одно из ведущих мест по летальности среди населения Республики Молдова, в частности смертность от осложнений цирроза печени в 2-3 раза выше чем в сопредельных государствах. В целом, ассортимент лекарственных средств, применяемых в комплексной фармакотерапии заболеваний печени многообразен. Широкое применение получили витаминные препараты, флавоноиды, индукторы

ферментной системы печени, ингибиторы перекисного окисления липидов. Однако, гепатопротекторов сравнительно немного, все они импортного производства и не одно из них не удовлетворяет клиницистов в полной мере.

Комбинированные лекарственные препараты обладают серией положительных свойств, например, повышенная терапевтическая эффективность благодаря аддитивным и синергическим воз-

действиям. Снижение побочных реакций вследствие применения более низких доз активных веществ с различными побочными эффектами, которые в свою очередь, повышают толерантность и комплаианс больных к лечению.

С целью профилактики и лечения осложнений хронических гепатитов и цирроза печени нами было разработано лекарственное средство Neamon-hera, которое представляет собой комбинированный препарат в капсулах из известных действующих веществ, впервые включенных в один состав: аргинина аспарат, спиринолактон и лекарственный препарат BioR (экстракт из биомассы цианобактерий *Spirulina platensis*).

Целью данного исследования являлась установление гепатопротекторного действия препарата Neamon-hera в лечении экспериментального токсического гепатита.

Материалы и методы

Опыты проводились на мышах-самцах (C57/BL6) массой 27-30 г, которые содержались на стандартной диете, при 12:12 световом режиме и свободном доступе к воде. Гепатопротекторное действие препарата Neamon-hera изучали на модели хронического токсического гепатита вызванным четыреххлористым углеродом (CCl₄). Гепатотоксин CCl₄ в виде 50%-го масляного раствора на кунжутном масле вводили подкожно в дозе 1 мл/кг 2 раза в неделю, в течение 3 недель. Контрольной группе вводили равномерное количество масляного раствора. Масса тела мониторизировалась еженедельно.

Исследуемый препарат Neamon-hera представленный в капсулах («Eurofarmaco» S.A г.Кишинев) изначально

растворяли в абсолютном этаноле с последующими разбавлениями (концентрация этанола не превышала 0,16 %). Полученный раствор добавляли в ежедневную выпитую воду на протяжении всего периода исследования. Животные получавшие терапию с Neamon-hera были разделены на 3 группы в зависимости от дневной дозы выпитого препарата – 10, 50 и 100 мг/кг.

На пятый день после последнего введения CCl₄ животных декапитировали соблюдая условия эвтаназии. В полученной сыворотке определяли активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и содержание общего билирубина. В отдельной пробирке собирали кровь для извлечения плазмы, которая была использована для определения уровня холестерина. Путем взвешивания печени был определен коэффициент «вес печени/вес тела».

Результаты и их обсуждение

Согласно полученным результатам, у животных принимавших Neamon-hera на протяжении 25 дней не отмечалось существенных изменений в поведении, масса тела оставалась постоянной в динамике, а вес печени был сравним с контрольной группой. Также не отмечалось существенной разницы в биохимических показателях характеризующих ферментативное состояние печени.

Токсическое поражение печени CCl₄ обусловлено воздействием продуктов его распада на основные ферментные системы в гепатоцеллюлярной ткани. У животных подверженных хронической интоксикацией CCl₄ отмечилось существенное понижение массы тела с одновременной

гепатомегалией, что способствовало увеличению индекса масса тела/вес печени более чем в два раза. Активность основных ферментов АЛТ и АСТ увеличилась соответственно в 23 и 9 раза в сравнении с контрольной группой животных. Также отмечилось увеличение более чем в 3 раза активности ЩФ и уровня общего билирубина, а ЛДГ и холестерин крови выросли примерно вдвое.

Препарат Neamon-hera приостановил в значительной мере развитие деструктивных изменений индуцированных хронической интоксикацией с СС14. Предложенное лекарственное средство предотвратило уменьшение массы тела и развитие гепатомегалии, которая была в прямой корреляции с применяемой дозой лекарства. Таким образом, в группе животных принимавших максимальную дозу Neamon-hera (100 мг/кг) было получено достоверное снижение в 2 раза индекса «вес печени/вес тела» в сравнении с интоксигированной группой. Введение Neamon-hera в *дозо-зависимой* манере,

сопровождалось уменьшением синдрома цитолиза, что выразилось снижением уровня АЛТ в сыворотке крови в 2,5 раза, АСТ – в 2,3 раза, ЛДГ – в 1,7 раза в группе получившей суточную дозу 100 мг/кг. В этой же группе содержание ЩФ, как показателя фосфорно-кальциевого обмена и синдрома холестаза, уменьшилось в 1,5 раза, а уровень общего билирубина снизился в 2,1 раза. Следовательно, можно заключить, что гепатопротекторное действие Neamon-hera обусловлено его мембраностабилизирующим эффектом эритроцитарный пул обмена билирубина. Кроме того, уменьшилось в 1,4 раза количество свободного холестерина в плазме крови.

Выводы

Комбинированный препарат Neamon-hera оказывает гепатопротекторный эффект, обладает способностью ограничивать структурно-метаболические нарушения печени.

О фитопрепаратах

В.П.Пахомов, Е.Ю.Демченкова

Институт клинической фармакологии ФГУ НЦ ЭСМП Росздравнадзора, Москва

Антиоксиданты – вещества, в малых количествах замедляют или полностью предотвращают окислительные процессы. Окислительные процессы могут проходить в организме человека, в растениях, пищевых продуктах и некоторых технических объектах.

Наука и практика все больше обращает внимание на лекарственные растения, то есть возвращается к естественным натуральным средствам (растениям). При этом врачи и ученые все больше возвращаются к многовеково-

му опыту народной медицины в борьбе с самыми серьезными и распространенными заболеваниями.

Лекарственные растения используют при функциональных расстройствах, различных формах патологий для получения эффекта проводимого лечения и профилактики. Следует иметь в виду, что растительные продукты обладают высокой антиоксидантной активностью (лимон, лук, чеснок и др.), при этом, ориентируясь на антиоксидантность следует ориентироваться на растительные

продукты. Другое дело, мы еще не полностью владеем надежной и точной методикой определения антиоксидантных свойств продуктов, но этим прибором сейчас в нашей стране усиленно занимаются разработчики и в том числе для определения антиоксидантного статуса человека. При этом предлагается высокоэффективная хроматография с амперометрическим детектором. В настоящее время такая система уже широ-

ко используется в продуктах питания. Для повышения точности используются стандарты (кверцетин, рутин, катехин и др.), из приборов (хроматографических) следует отметить «Цвет Яуза», фирмы НПО «Химавтоматика». Однако необходимо провести сравнительные данные уже существующих методов определения антиоксидантной активности, позволяющих надежно определять активность каждого исходного продукта.

Новые возможности получения эффективных лекарственных средств (энтмологические препараты)

И.Н.Погоня

Научный Центр исследования лекарств при Государственном университете медицины и фармации, им. Н.Тестемицану, Кишинев, Республика Молдова

Насекомые издавна известны как источник средств с благоприятным влиянием на организм человека. Как составляющее окружающего мира, давно заинтересовали ученых благодаря своей численностью и превосходно организованной системой сосуществования. Конечно, более знакома проблема борьбы с вредностью насекомых, но в последние десятилетия привлекают внимание особенности выживания в сложном мире, многообразии и высокая степень организации защитных систем. Изучение биохимии насекомых позволило объяснить, что вырабатываемые многочисленными пептиды, гормоны, феромоны и другие биологически активные вещества в ничтожных количествах обеспечивают стадийность развития и защиту от вредных факторов, что побудило на поиск и создание новых лекарств.

В последние годы получен ряд некоторых активных веществ из тканей

различных этапов развития насекомых с разнообразными положительными эффектами (см. рис., стр. 117).

Целью исследования явилось изучение гепатопротекторных, иммуотропных и противовоспалительных свойств препаратов энтмологической природы, полученные из тканей насекомых рода *Lepidoptera* на разных стадиях их развития – имупурина, энтогептина, аденопропина и имугептина

Материалы и методы

Опыты были проведены на белых мышках и крысах в соответствии с методическими рекомендациями по изучению свойств препаратов. При изучении иммуотропных свойств (неспецифическую резистентность, фагоцитоз в частности, число фагоцитирующих нейтрофилов и макрофагов, количество фагоцитированных стафилококков, фа-

гоцитарного числа и индекса) препараты применялись в дозах 100 и 1000 мкг для мыши). Противовоспалительное действие оценивали по степени выраженности отека задней лапки мыши, индуцированного формалином. Гепатопротекторный эффект изучали на моделях острого токсического поражения печени, вызванной парацетамолом и четыреххлористым углеродом. При этом протекторные свойства препаратов оценивали по изменению активности аспартат- и аланин-аминотрансфераз (АЛТ, АСТ), щелочной фосфатазы и содержания глюкозы, общего белка и общего холестерина в крови.

Результаты и их обсуждение

При исследовании влияния на специфическую резистентность было установлено, что имупурин способствовал выживанию 70-80% мышей, имугептин – 60%, а энтогептин – 50%.

При применении имупурина значительно увеличивалось (в 3-3,5 раза) число фагоцитирующих нейтрофилов и макрофагов, а также количество фагоцитированных стафилококков (в 3,5-3,7 раза). Одновременно отмечалось достоверное повышение фагоцитарного индекса (в 3-3,4 раза) и тенденция к возрастанию фагоцитарного числа. Полученные данные позволили заключить, что имупурин обладает выраженным иммуотропным действием.

Индуцированный формалином отек (3 г/л) при введении энтогептина значительно уменьшался уже через 24 часа с нормализацией состояния животного через 48 часов. Имупурин проявлял слабый противовоспалительный эффект. Аденопросин и диклофенак занимали промежу-

точное положение. Таким образом, энтомологические препараты энтогептин и аденопросин не уступали, и даже превосходили по эффективности нестероидные противовоспалительные средства.

При введении энтомологических средств в течение недели до воспроизведения острого токсического гепатита четыреххлористым углеродом и парацетамолом было установлено защитное действие энтогептина, имупурина и имугептина, которое выражалось в предупреждении повышения активности трансаминаз (АЛТ), лактатдегидрогеназы и модуляции уровня глюкозы, общего белка, мочевины и креатинина. При этом сохранялась нормальная структура печени (морфологические изменения незначительны).

Результаты исследования препаратов установили что энтогептин, имугептин и имупурин проявляли более выраженную способность нормализовать активность АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы в сыворотке и в печени после двух недельного применения. В эти же сроки практически возвращалось к норме содержание глюкоза, общего белка и общего холестерина.

Выводы

Таким образом, полученные результаты показали, что имупурин проявлял наиболее выраженные иммуномодулирующие, а энтогептин и аденопросин противовоспалительные свойства.

Гепатопротекторное действие, которое выражалось как в предупреждении возникновения, так и в течение острого токсического поражения печени, было характерно для энтогептина, имупурина и имугептина.

*Насекомые род *Лепидоптера**

Специальная технология получения сырья

Эффекты препаратов и форма выпуска



Состав препаратов

Водорастворимые белки, холестерин, триглицериды, ферменты (амилаза, липаза), водорастворимые антиоксиданты, аминокислоты: заменимые (аспарагиновая к-та, серин, глутаминовая к-та, пролин, цистеин, глицин, аланин, тирозин), незаменимые (треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, гистидин, лизин, аргинин, триптофан), всего 18 аминокислот.

Основные свойства

Иммуномодулирующее
Гепатопротекторное
Противовоспалительное
Антиоксидантное

Показания

В составе комплексной терапии заболеваний, сопровождающихся снижением иммунитета; острые и хронические вирусные, бактериальные инфекции; герпес-вирусные инфекции; хронический вирусный гепатит, токсические повреждения печени (алкоголизм, интоксикации, лекарственные поражения печени) и их профилактика; состояния после инфекционного гепатита; дистрофия и жировая инфильтрация печени; воспалительные заболевания.

Эндотелиопротективные дозозависимые эффекты силденафила в комбинациях с L-аргинином при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота

Т.Г.Покровская, Т.Н.Чулюкова, М.В.Покровский, Н.Г.Филиппенко

Курский государственный медицинский университет, Курск

Последнее десятилетие ознаменовалось интенсивным изучением ингибиторов фосфодиэстераз 5-го типа (ИФДЭ 5), которые изначально использовались как лекарство для лечения эректильной дисфункции, в пульмонологии, кардиологии, гастроэнтерологии, гинекологии и других смежных специальностях. Экспериментальное исследование на крысах показало, что силденафил является высокоактивным препаратом в отношении воздействия на клетки эндотелия сосудистого русла. Силденафил является более короткодействующим препаратом, менее селективным и менее безопасным, чем остальные более современные препараты, но возможно именно больший охват регуляторного воздействия на уровень цГМФ предопределил крупномасштабное изучение данного препарата в более чем 15 контролируемых клинических исследованиях, не связанных с эректильной дисфункцией: первичная и вторичная легочные гипертензии, хроническая сердечная недостаточность, хроническая обструктивная болезнь лёгких, нейропатия у больных с сахарным диабетом, преэклампсия. В доступной литературе мы не обнаружили сведений об исследовании эндотелиотропных дозозависимых эффектов силденафила и тадалафила в комбинации с эндогенным субстратом для синтеза оксида азота L-аргинином при моделировании дефицита оксида азота.

Цель. Изучение сравнительной оценки коррекции эндотелиальной дисфункции при повреждении в системе L-аргинин/NO, которое связано с недостаточностью эндотелиальной NO-синтазы, с помощью силденафила в комбинациях с L-аргинином.

Материалы и методы

Опыты проводились на белых крысах самцах линии Wistar массой 250-300 г. Неселективный блокатор NO-синтазы (eNOS), N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился внутривенно в дозе 25 мг/кг/сут. На 8 день от начала эксперимента под наркозом (этаминал-натрия 50 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД) во время проведения сосудистых проб, болюсное введение фармакологических агентов осуществлялось в правую бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД), частоту сердечных сокращений (ЧСС) измерялись непрерывно посредством датчика TSD140 с помощью полиграфа MP100 (Biopac systems, США), регистрация результатов производилась программой AcqKnowledge версии 3.8.1. Проводились следующие функциональные сосудистые пробы: эндотелий зависимая ва-

зодилатация (ЭЗВ) – внутривенное введение ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг, эндотелий независимая вазодилатация (ЭНЗВ) – внутривенное введение нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг. Исследуемые группы животных (n=10): I – интактные; II – с введением L-NAME; III-IV – с введением на фоне L-NAME силденафила 2,2 мг/кг 0,22 мг/кг соответственно, внутрижелудочно однократно в сутки; V-VI – с введением на фоне L-NAME силденафила в вышеуказанных дозах и L-аргинина (200 мг/кг внутривенно) однократно в сутки. При статистической обработке данных рассчитывали среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При одновременном введении L-NAME и силденафила в большей и меньшей дозах отмечалось определенное гипотензивное действие в обеих группах. Дополнительное введение L-аргинина к силденафилу как в большой, так и в малой дозах способствовало проявлению большего гипотензивного действия комбинации, так, параметры САД и ДАД снижались с $188,7 \pm 10,2$ и $155,0 \pm 9,6$ в первой группе и $182,6 \pm 9,6$ и $156,1 \pm 12,9$ во второй до $168,8 \pm 7,7$ и $133,1 \pm 7,2$ мм рт., $178,8 \pm 9,7$ и $139,3 \pm 10,2$ ст. соответственно.

При проведении функциональных сосудистых проб для оценки фармакологической коррекции L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота, нами использован коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД), предложенный в нашей лаборатории, отражающий соотношения расчетных показателей ЭНЗВ и ЭЗВ. В группе с введением L-NAME КЭД составил $5,4 \pm 0,6$ усл.ед., а

в группе интактных животных – $1,1 \pm 0,1$ усл. ед, следовательно, чем ближе получаемые значения КЭД в опытных группах, тем выше степень коррекции моделируемой эндотелиальной дисфункции. В группе, где на фоне введения ингибитора NO-синтазы L-NAME вводился силденафил в дозе 2,2 мг/кг это отношение соответствовало значению $2,3 \pm 0,2$ усл. ед., в дозе 0,22 мг/кг – $3,2 \pm 0,3$ усл. ед. В группе с дополнительным введением к большей дозе силденафила L-аргинина в дозе 200 мг/кг – $2,4 \pm 0,3$ усл. ед., в меньшей – 2,5 усл. ед. При статистическом анализе выявлено что, комбинация силденафила в большей дозе с L-аргинином достоверно не приводит к усилению эндотелиопротективных эффектов ингибитора ФДЭ5 эндогенным донатором оксида азота. Эндотелиотропные эффекты уменьшенной в 10 раз дозы силденафила сохраняются, но статистически достоверно ниже по активности их проявления в сравнении с большей дозой. Следует отметить преимущественное увеличение эндотелийзависимой составляющей в группе с введением силденафила 0,22 мг/кг и L-аргинина в сравнении с введением одного силденафила 0,22 мг/кг, а выраженность эндотелийпротективного эффекта данной комбинации сопоставима и статистически не отличается от монотерапии силденафилом в дозе 2,2 мг/кг.

Выводы

Сочетанное использование силденафила в сниженных (в десять раз меньше, чем минимальная терапевтическая) дозах воздействия в сочетании с L-аргинином соответствует по эндотелиопротективному эффекту терапевтической общепринятой начальной терапевтической дозе

силденафила. Полученные данные свидетельствуют о проявлении аддитивного эндотелиопротекторного эффекта дополнительного введения L-аргинина, как модулятора синтеза оксида азота, дополняющего фосфодиэстеразный механизм эндотелиопротекции и вазодилатации. Данные исследования свидетельству-

ет о доминировании мощности цГМФ-зависимого пути механизма коррекции нарушений сосудистого эндотелия, но и о возможности избежать системных побочных эффектов силденафила при совместном его использовании с L-аргинином при сохранении выраженности эндотелиопротективных эффектов.

Энтеропротекторное действие когитума на моделированный спазм в эксперименте

И.А.Савенко

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Существенное место в механизмах развития язвенной болезни желудка занимает нарушение моторной функции желудочно-кишечного тракта. Замедление эвакуаторной деятельности при язвенной болезни приводит к увеличению времени контакта желудочного сока со слизистой оболочкой желудка, застою пищи и забросу содержимого двенадцатиперстной кишки в желудок, что способствует повреждению участков слизистой оболочки желудка. С другой стороны, чрезмерно скорая эвакуация содержимого из вышележащих отделов ЖКТ в нижележащие приводит к различным патологическим процессам. Недостаточно переваренная пища раздражает слизистую оболочку кишечника, что препятствует формированию нормального химуса, это влечет в свою очередь раздражение слизистой оболочки кишечника и следующим за ним синдром раздраженного кишечника, болезнь Крона, синдром мальабсорбции, нарушение микробиоценоза толстого кишечника – дисбиоз. Ликвидация нарушений моторно-эвакуаторных компонентов функционирования желудочно-кишечного тракта

приводит к ускорению процессов рубцевания [2, 3]. Препараты аминокислотной структуры способны нивелировать метаболический дефицит в слизистой оболочке. В особенности важно то, что гастропротекторный эффект когитума сопровождается выраженной нейропротекторной активностью. [3].

Аспарагиновая кислота относится к неэссенциальным аминокислотам и является биоспецифическим соединением.

Механизм действия характеризуется мультивариабильной направленностью.

Синтетическим аналогом аспарагиновой кислоты, соответствующим ей по действию является когитум [1].

Цель. Определить энтеропротекторное действие когитума на моделированный спазм кишечника в эксперименте.

Материалы и методы

Эксперименты проводили *in vitro* на изолированном участке тонкой кишки белых крыс линии Wistar и *in vivo* на белых неимбредных мышах.

Состояние моторной функции желудка и кишечника при введении когитума

изучено *in vivo* на беспородных белых мышах массой 20-24 г методом «меток». В качестве метки в пищеварительный тракт вводили 10% взвесь активированного угля, приготовленного на 2% слизи картофельного крахмала, в количестве 0,5 мл. Исследуемый препарат вводили за 2 ч до введения активированного угля, однократно через зонд в желудок. Животных умерщвляли методом декапитации под эфирным наркозом через 10 мин после введения угля. Желудок с кишечником извлекали и последний расправляли на стеклянной пластине, затем сантиметровой лентой измеряли общую длину кишечника и «дистанцию» угля. Отношение длины заполненной активированным углем части кишечника к общей длине выражали в процентах и таким образом определяли ускорение или замедление моторики. Влияние когитума на моторику кишечника *in vitro* проводили на изолированном участке тонкой кишки крыс длиной 4 см интактного и спазмированного введением ацетилхолина.

ли с применением t-критерия Стьюдента (Microsoft Excel Ver 9, 2000).

Результаты и их обсуждение

Провели исследование влияния различных доз когитума (0,1 мл/кг, 0,2 мл/кг, 0,3 мл/кг) на моторно-эвакуаторную функцию желудочно-кишечного тракта у мышей методом «меток». В результате эксперимента было установлено, следующее. Когитум обладает обстипационным эффектом, причем эффект препарата тем более выражен чем больше доза препарата: доза препарата 0,1 мл/кг замедляла эвакуаторную активность кишечника мышей на 11,6%; доза препарата 0,2 мл/кг на 26,8%, доза препарата 0,3 мл/кг на 38,9% по сравнению с контрольными животными, Самый выраженный обстипационный эффект проявился когитума в дозе 0,3 мл/кг он составлял 38,9%.

Результаты представлены в таблице.

Таблица

Влияние когитума на моторно-эвакуационную функцию кишечника мышей ($M \pm m$, Δ %, $n=6$)

Серии эксперимента	Длина кишечника, см $M \pm m$	Длина кишки, заполненной активированным углем, см	Отношение длины кишки, заполненной углем к общей длине, %	Отношение к показателям контроля %
Контроль	55,4 \pm 2,11	32,2 \pm 0,41	58,1	100
1,0 мл/кг	55,6 \pm 1,51	28,6 \pm 0,63	51,4	88,4
2,0 мл/кг	56,1 \pm 1,35	23,8 \pm 0,71	42,5	73,2
3,0 мл/кг	55,8 \pm 1,87	19,8 \pm 0,54	35,5	61,1

Примечание: результаты эксперимента считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты фиксировали QX3^(tm) Computer Microscope. Расчёты проводи-

ли с применением t-критерия Стьюдента (Microsoft Excel Ver 9, 2000). Влияние когитума на моторику гладкой мускулатуры тонкой кишки крысы

in vitro изучали на отрезках тонкой кишки крыс длиной 4 см. Один конец кишки фиксировали к неподвижному упору, находящемуся на дне кюветы, другой при помощи нити соединяли с легким рычажком. Рычажок соединен с подвижной шторкой, изготовленной из тонкой фольги. Для регистрации перистальтических сокращений изолированного участка кишки использовали фотоэлектрический датчик, соединенный с самопишущим прибором КСП-1. Кювету с изолированным участком тонкого кишечника крысы заполняли стандартным объемом раствора Рингера и термостатировали при 37⁰С. Сокращения и движения кишки передавались на подвижный рычажок, который в свою очередь перемещал шторку фотоэлектрического датчика, изменяя световой поток лампочки, закрепленной перед фотодатчиком. Сигнал с фотоэлектрического датчика передавался на самописец и фиксировался на бумажной ленте.

Изучали действие когитума на тонус мускулатуры интактного участка изолированного кишечника, а также на спазмированный кишечник. Для моделирования кишечного спазма использовали ацетилхолин в рекомендуемой концентрации 1:2000000.

Когитум в дозе 0,1, 0,2 0,3 мл вводили в раствор, омывающий отрезок кишечника. Спазмолитическую активность оценивали в условных единицах,

принимая пределы измерения прибора от 0 до 100.

Под влиянием когитума тонус изолированного отрезка интактного кишечника достоверно снижался: при введении 0,1 мл на 18,75%, 0,2 мл на 28,3%; 0,3 мл 48,0%. Влияние на возникновение ацетилхолинового спазма наибольшее, хотя и незначительное, препарат оказал в дозе 0,3 мл.

Выводы

Когитум проявляет выраженный энтеропротекторный эффект при экспериментальной патологии моторики кишечника. Действующее вещество – ацетиламиноянтарная кислота обеспечивает регенеративное и метаболическое действие на моделированное повреждение кишечника мышей и крыс.

Список литературы

1. **Бурбелло А.Т.** Современные лекарственные средства: клинко-фармакологический справочник практического врача – 3-е изд., перераб. и доп. СПб.: Изд. дом «Нева», 2005. – 896 с.
2. **Звартау Э.Э.** Фармакотерапия гастродуоденальных язв. СПб.: Наука, 1992. – 174 с.
3. **Ивашкин В.Т.** Избранные лекции по гастроэнтерологии. М.: Мед-пресс, 2001. –170 с.

Фармакологическое исследование влияния когитума на моделированную патологию желудка крыс

И.А.Савенко, А.В.Крищенко, А.В.Сергиенко, М.Н.Ивашев

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Когитум – монокомпонентный синтетический аналог аспарагиновой кислоты. Применяется в комплексной терапии нарушений деятельности центральной нервной системы, при астенических состояниях различного генеза [1]. При язвенно-эрозивном поражении отмечаются дистрофические изменения желудка. Препараты аминокислотной структуры способны нивелировать метаболический дефицит в слизистой оболочке желудка. В особенности важно то, что гастропротекторный эффект когитума сопровождается выраженной нейропротекторной активностью [3].

Цель. Изучение влияния когитума на различные виды моделированной патологии желудка крыс.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на белых крысах линии Wistar. Моделировали острую стероидно-этаноловую гастропатию (преднизолон 20 мг/к, в 80% этаноле, в объеме 8 мл/кг) Субхроническое повреждение слизистой оболочки желудка вызывали введением крысам в желудок 150 мг/кг ацетилсалициловой кислоты дважды с интервалом в 4-е часа. Ишемическую гастропатию по Н.Shay et al. (1945) моделировали полной 3-х часовой перевязкой пилорической части желудка крыс. Интервал между введением исследуемых препаратов и оперативным вмешательством по Н.Shay составлял 30

минут [2]. После индукции ульцерогенеза, вводили когитум в экспериментальных дозах 1,0; 2,0; 3,0 мл/кг веса крысы, контроль раствор Рингера-Локка. Через 24 часа вскрывали желудки по *curvatura ventriculi minor*, проводили подсчет количества, площади и массы язвенно-эрозивных образований, массы желудка, объема и кислотности желудочного сока. Результаты фиксировали QX3^(tm) Computer Microscope. Расчёты проводили с применением t-критерия Стьюдента (Microsoft Excel Ver 9, 2000).

Результаты и их обсуждение

Масса желудка интактных крыс составляла 1710,0±25,17 мг. У животных со стероидно-этаноловой язвой, не получивших лечение (контроль, раствор Рингера-Локка), слизистая оболочка желудка была гиперемирована, по всей слизистой наблюдались геморрагии, четко выраженная васкуляризация, эрозии и язвы, занимающие поверхность практически всего слизистого слоя. Средняя масса желудка составила всего 1017,0±15,43 мг, что было снижено на 40,5% по сравнению с нормальными показателями.

При стероидно-этаноловой гастропатии слизистая оболочка желудков животных, получивших когитум в дозе 1,0 мл/кг, имела местами воспаленный вид, с отдельными полосовидными язвенными поражениями количе-

ство язв $8,64 \pm 1,1$ шт, средняя масса желудка $1228,0 \pm 22,43$ мг, рН $5,5 \pm 0,2\%$, объем содержимого $7,2 \pm 0,6$ мл. Когитум (2,0 мл/кг): слизистая оболочка розового цвета, с образованием единичных выраженных язв, воспаление средней глубины, язвы небольшие $0,98 \pm 0,2$ мм² количество $3,2 \pm 0,2$ шт на 1 желудок, рН $5,0 \pm 0,15\%$, средняя масса желудка $1457,4 \pm 18,7$ мг объем содержимого $0,8 \pm 0,05$ мл. Когитум (3,0 мл/кг): слизистая нежно-розовая, без выраженного воспаления, с присутствием поверхностных поражений, рН $4,7 \pm 0,12\%$, средняя масса желудка $1757,41 \pm 25,6$ мг объем содержимого $0,6 \pm 0,03$ мл. Изучаемый препарат не уступал препаратам сравнения: облепиховое масло, метилурацил и ранитидин. Площадь язвенно-эрозивных повреждений на фоне применения облепихового масла составила $11,2 \pm 1,0$ мм², при количестве $2,66 \pm 0,2$ язв на 1 желудок. Ранитидин – площадь язвенных поражений $22,1 \pm 2,0$ мм², в количественном выражении это составило $4,45 \pm 0,7$ язвы на 1 желудок. Показатели облепихового масла превышали показатели по площади язвенных поражений метилурацила на $7,82\%$, ранитидина на $17,11\%$, но были ниже показателя когитум.

При НПВС-индуцированной гастропатии у животных, не получивших лечение (контроль), слизистая оболочка желудка была гиперемирована, наблюдались глубокие и обширные геморрагии, множественные эрозии, покраснения и язвенные поражения всей поверхности слизистой оболочки. Средняя масса желудка контрольных животных составила всего $1000,0 \pm 18,3$ мг. Вес язвенных повреждений суммарно был равен $25,33 \pm 1,98$ на 1 животное при площади $3,83 \pm 0,98$ мм² и количестве язвенных дефектов $6,04 \pm 1,09$ шт на 1 желу-

док, рН $3,4 \pm 0,1\%$ объем содержимого $0,9 \pm 0,02$ мл. Слизистая оболочка желудка животных, получивших когитум в дозе 1,0 мл/кг, имела в большинстве своем розовую окраску, но присутствовали эрозивные поражения в виде достаточно глубоких петехий темно-бурого цвета, как точки $4,0 \pm 1,5$ шт, средняя масса желудка $1335,0 \pm 20,88$ мг, рН $3,5 \pm 0,3\%$, объем содержимого $0,9 \pm 0,015$ мл. Когитум (2,0 мл/кг): слизистая оболочка имела нежно-розовую окраску, с неглубокими, легкими изъязвлениями слизистой $0,87 \pm 0,31$ мм² количество $2,5 \pm 0,15$ шт, рН $4,6 \pm 0,2\%$, средняя масса желудка $1625,0 \pm 23,3$ мг объем содержимого $0,5 \pm 0,01$ мл. Слизистая оболочка желудка животных, получивших когитум в дозе 0,3 мл/кг, имела нежно-розовую окраску, без эрозивных поражений и петехий. рН $4,8 \pm 0,2\%$, средняя масса желудка $1760,0 \pm 25,8$ мг объем содержимого $0,5 \pm 0,01$ мл.

При моделированной механической ишемической гастропатии слизистая оболочка желудка не леченных животных, (контрольная группа), имела болезненный вид с довольно глубокими и обильными язвенно-эрозивными дефектами, иногда слизистая была полностью ими покрыта. Средняя масса желудка в этой группе животных составила $950,0 \pm 18,9$ мг, вес язвенных повреждений составил $38,33 \pm 2,65$ мг. Площадь язв в абсолютных единицах составила $11,5 \pm 1,26$ мм², количество язвенных дефектов $8,0 \pm 1,1$, рН $4,0 \pm 0,2\%$, объем содержимого $0,7 \pm 0,02$ мл. Слизистая оболочка желудка животных, получивших когитум в дозе 0,1 мг/кг, имела в большинстве своем розовую окраску, но присутствовали единичные изъязвления слизистой. Средняя масса желудка составила $1570,0 \pm 28,7$ мг, рН $4,0 \pm 0,2\%$, объ-

ем содержимого $0,7 \pm 0,015$ мл. Площадь язв в абсолютных единицах составила $1,0 \pm 0,17$ мм². Слизистая оболочка желудка животных, получивших когитум в дозе 0,2 мл/кг, так же имела здоровую, нежно-розовую окраску, без выраженных эрозивных поражений и петехий. Значение pH $4,0 \pm 0,1\%$, средняя масса желудка $1650,0 \pm 30,4$ мг объем содержимого $0,68 \pm 0,04$ мл. Слизистая оболочка животных, получивших когитум в дозе 0,3 мл/кг, имела здоровую, нежно-розовую окраску, без выраженных эрозивных поражений и петехий. Средняя масса желудка $1721,0 \pm 35,7$ мг, pH $4,0 \pm 0,13\%$, объем содержимого $0,7 \pm 0,03$ мл.

Выводы

Когитум проявляет выраженный гастропротекторный эффект при экспериментальной патологии на слизистую оболочку желудка. Действующее вещество – ацетиламиноянтарная кислота обеспечивает противоязвенное, регенеративное и метаболическое действие на моделированное язвенно-эрозивное повреждение слизистой оболочки желудка крыс. Гастропротекторный эффект когитума достоверно выше зарегистрированных препаратов сравнения регенеративного, метаболического и антисекре-

торного типа действия (метилурацил, облепиховое масло и ранитидин). Как средство профилактики язвенной болезни на этапе формирования язвенно-эрозивного дефекта сразу после воздействия фактора агрессии более рационально применение средства метаболического типа действия, стимулирующего обменные процессы слизистой оболочки желудка и предотвращающего язвообразование независимо от типа альтернативного агента – препарата на основе ацетиламиноянтарной кислоты – когитум.

Список литературы

1. **Бурбелло А.Т.** Современные лекарственные средства: клинко-фармакологический справочник практического врача. – 3-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Издательский дом «Нева», 2005. – 896 с.
2. **Звартау Э.Э.** Фармакотерапия гастродуоденальных язв. – СПб.: Наука, 1992. – 174 с.
3. **Ивашкин В.Т.** Избранные лекции по гастроэнтерологии. – М.: Мед-пресс, 2001.-170 с.
4. Терапевтический справочник Вашингтонского университета. 2-е русск. изд-е / под ред. **Ч. Кэри, Х. Ли, К. Велтве.** Пер. с англ. Практика. – Липпинкотт, 2000. 879 с.

Фармакокинетическое изучение анастрозола на животных

Эйса Задех Салар Фалахатий, Г.Д.Капанадзе

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Анастрозол – современный лекарственный препарат с противоопухолевой активностью в отношении эстрагензависимых опухолей молочной железы у женщин в постменопаузе. После приема внутрь всасывается 83-85% принятой дозы, время достижения максимальной концентрации – 2 часа, связь с белками плазмы – 40%, равновесная концентрация в плазме достигается после 7 суток приема препарата. Метаболизм осуществляется в процессе N-деалкилирования, гидроксирования и конъюгации с глюкуроновой кислотой. Основной метаболит – триазол, определяемый в плазме и моче, не обладает аналогичной фармакологической активностью. Метаболиты выводятся преимущественно почками, менее 10% дозы выводится с мочой в неизменном виде в течение 72 ч. Задачей нашего исследования было изучить фармакокинетические параметры анастрозола у мини-свиней после однократного перорального введения.

Материалы и методы

Динамику концентрации анастрозола изучали на 12 мини-свиньях светлогорской популяции (работа с животными проводилась в Научном центре биомедицинских технологий РАМН) после однократного перорального введения анастрозола в дозе 2 мг. Отбор крови осуществляли до и спустя 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 и 72 часа после введения

препарата. Концентрацию анастрозола в плазме крови животных определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Фармакокинетические параметры рассчитывали модельно-независимым методом. Полученные экспериментальные данные были подвержены статистической обработке.

Результаты и их обсуждение

Пик концентрации анастрозола достигался в среднем через 2 часа после введения препарата и составлял 74,8±43,5 нг/мл. Следует отметить, что через 72 часа после приема препарата концентрация анастрозола во всех пробах была ниже предела определения.

Выводы

Изучена динамика концентрации анастрозола у мини-свиней после однократного перорального введения.

Использование программно-целевого подхода для разработки модели лекарственного обеспечения социально значимых заболеваний в Республике Казахстан

Л.Г.Сатаева

Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова, Алматы, Республика Казахстан

Реформирование фармацевтического сектора здравоохранения в РК привело к изменению нормативно-правовой базы, регламентирующей процесс оказания лекарственной помощи [1, 2]. Институциональные преобразования экономики привели к тому, что имеется недостаток средств для закупки лекарственных препаратов, необоснованное, нерациональное использование препаратов, отсутствие объективной информации, наличие на рынке лекарственных средств с сомнительными терапевтическими свойствами.

Цель. Разработка модели лекарственного обеспечения больных социально значимыми заболеваниями в РК с использованием программно-целевого подхода.

Материалы и методы

Основным методом исследования был контент-анализ законодательной базы, регламентирующей процесс предоставления лекарственной помощи, логический анализ. Материалы для проведенного моделирования были получены путем проведения собственных социологических исследованиях, SWOT-анализа, существующей нормативно-правовой базы в области лекарственного обеспечения.

Результаты и их обсуждение

В моделировании выделяют несколько этапов. Основным является формирование качественных и количественных закономерностей, описывающих основные черты явления. На этом этапе необходимо широкое привлечение знаний и фактов о структуре и характере функционирования рассматриваемой системы, ее свойствах и проявлениях. Этап завершается созданием качественной (описательной) модели объекта, явления или системы. С использованием метода структурного моделирования нами предлагается подход к управлению развитием процесса лекарственного обеспечения в РК для совершенствования ЛО больных СЗЗ (рис.).

Целью разработанной нами модели является предоставление справедливого доступа к высокоэффективным и безопасным ЛС, обеспечение равных прав и возможностей в получении лекарственной помощи. В этой модели нами определено, что доступ к ЛС для данных больных должен быть равным независимо от социального и материального положения для поддержания и улучшения здоровья. В настоящее время механизмы ответственности за низкое качество ЛО не отработаны. Поэтому разработанные нами механизмы снижения рисков, характер-

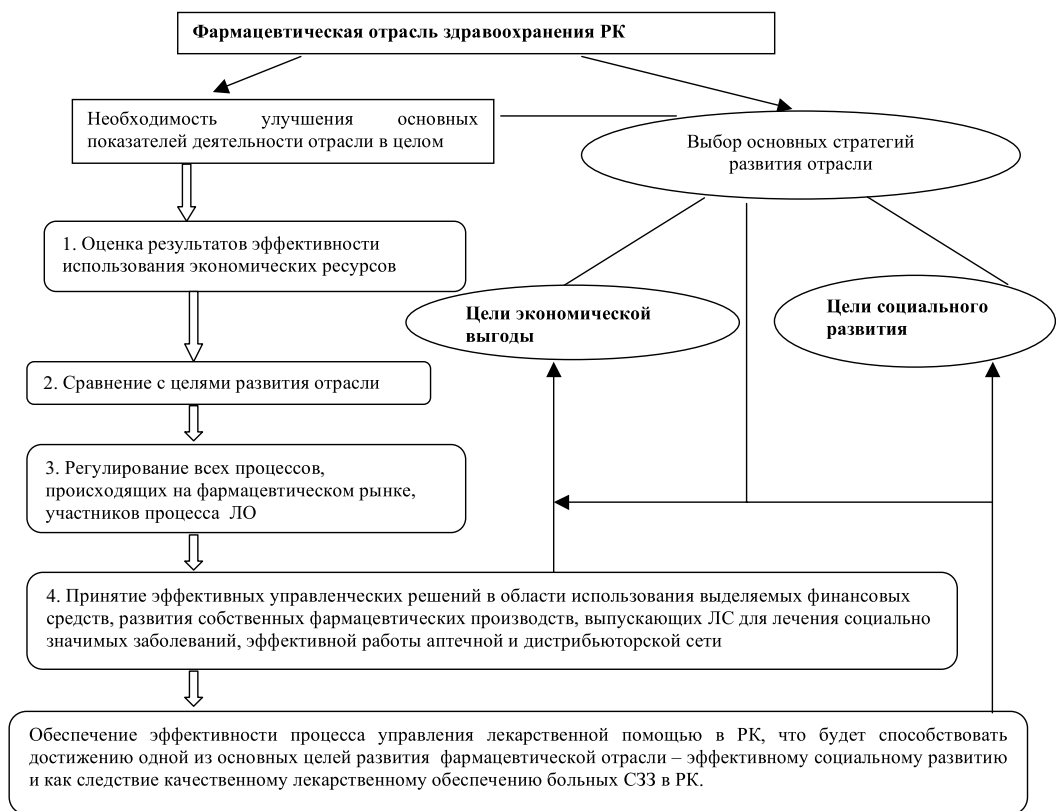


Рис. 1. Модель оказания лекарственной помощи больным социально значимыми заболеваниями.

ных для процесса ЛО были призваны снизить роль человеческого фактора в процессе ЛО больных СЗЗ. Для эффективного ЛО больных этими заболеваниями невозможно опираться только на рыночные механизмы фармацевтического рынка, а необходимо основываться на взаимовыгодном использовании социальных и экономических целей развития.

Как показывает построенная нами структурная модель, для эффективного лекарственного обеспечения больных этими заболеваниями невозможно опираться только на рыночные механизмы фармацевтического рынка, а необходимо основываться на взаимовыгодном использовании социальных и экономических целей развития.

После проведенного анализа нами

предлагается следующий методологический принцип – это разработка системы управления социальным механизмом фармацевтического рынка для улучшения качества оказания лекарственной помощи населению РК. Интересы конечных потребителей (больных СЗЗ) должны быть учтены в показателях развития фармацевтической отрасли.

В ходе проведенного нами анализа предлагаются для использования следующие принципы:

1. Главный принцип – больные СЗЗ должны стать ключевой группой процесса лекарственного обеспечения.

2. Фармацевтический рынок РК и организация процесса лекарственного обеспечения данных больных должны рассматриваться как целостная система.

В настоящее время процесс лекарственного обеспечения больных СЗЗ органами управления здравоохранением, а также участниками процесса лекарственного обеспечения не рассматривается как единое целое, как система. Основными принципами функционирования моделей «Лекарственное обеспечение больных социально значимыми заболеваниями» являются:

1. Прозрачность при оказании лекарственной помощи (при тендерных закупках, отпуске ЛС в стационарах, поликлиниках и т.д.).

2. Медико-социальная необходимость и экономическая обусловленность бесплатной лекарственной помощи.

3. Постоянное Государственное регулирование и контроль за отпуском, потреблением и использованием ЛС, получаемых за счет государственного бюджета.

4. Принцип солидарного партнерства всех участников процесса лекарственного обеспечения больных социально значимыми заболеваниями.

Выводы

1. Разработанная нами модель представляет собой оптимальную органи-

зационную структуру, ориентированную на данных больных и отражает программно-целевой подход к преодолению негативного воздействия внешней среды посредством специальных методических приемов и методов, а также путем всестороннего анализа и организационно-методического и институционального решения внутренних проблем.

2. Разработанная нами модель отражает программно-целевой подход к преодолению негативного воздействия внешней среды посредством специальных методических приемов и методов, а также путем всестороннего анализа и организационно-методического и институционального решения внутренних проблем.

Список литературы

1. *Менабде Н., Стобелар Ф., Дуйсеев А. и др.* Стратегия реформы фармацевтического сектора в новых независимых государствах. Фокус на пациента. – ВОЗ, Женева. – 1998. – 39с.

2. *Максимкина Е.А., Сатаева Л.Г.* Программно-целевой подход к процессу лекарственного обеспечения больных социально значимыми заболеваниями в РК // Фармация. 2008. – №5. – С. 32-36.

Изучение антиаритмического действия анилокаина и лидокаина при строфантиновой аритмии

Т.А.Скоробогатова

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

Профилактика и терапия нарушений сердечного ритма является одной из острейших проблем клинической практики. Аритмии развиваются почти в 25% случаев интенсивной гликози-

дотерапии и отмечаются у около 50% больных при проведении общей анестезии [3]. Анилокаин (2-броманилид-3-диэтиламинопропановой кислоты гидрохлорид) является современным ане-

стетиком амидной группы. В экспериментальных условиях препарат подтвердил высокую местноанестезирующую активность и относительно малую токсичность [2]. Глубокое и продолжительное анестезирующее действие позволяет предполагать наличие антиаритмической активности анилокаина.

Цель. Изучить антиаритмическое действие анилокаина и лидокаина взятого в качестве препарата сравнения на модели строфантиновой аритмии.

Материалы и методы

Исследуемые препараты вводят крысам линии Wistar под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг внутривенно) внутривенно (в яремную вену) в дозах, составляющих 1/25, 1/100 от среднесмертельной дозы за 2 минуты до введения раствора строфантина «К» в дозе 0,5 мг/кг [1, 3]. Контрольной группе животных внутривенно (в яремную вену) вводят изотонический раствор хлорида натрия в эквивалентных количествах за 2 минуты до инфузии строфантина «К». Электрокардиограмму регистрируют во II стандартном отведении. Эффективность препаратов при строфантиновой аритмии оценивают по степени торможения аритмического действия строфантина «К» по сравнению с контрольными данными. При этом наблюдается 100% выживаемость животных.

Результаты и их обсуждение

В результате выполненных исследований показано, что анилокаин в дозе

2,5 мг/кг предотвращает развитие тахикардии в интервале от 1 до 15 минут с момента введения аритмогенного вещества, в дозе 10 мг/кг обладает способностью тормозить развитие аритмического действия строфантина «К» интервале от 1 до 50 минут. Лидокаин в дозе 1,5 мг/кг уменьшает тахиаритмию во временном интервале от 1-5 минут и статистически значимо замедляет частоту сердечных сокращений в течение 20 минут.

Выводы

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о наличии антиаритмического компонента в спектре действия анилокаина.

Анилокаин, относящийся к местным анестетикам, обладает антиаритмическим действием на модели строфантиновой аритмии.

Список литературы

1. *Галенко-Ярошевский П.А., Гацура В.В.* Методы поиска и доклинического исследования специфической активности потенциальных сердечно-сосудистых средств. – Краснодар: Просвещение-Юг, 2005. – С. 56-59.
2. *Панцуркин В.И.* Анилокаин. Опыт применения инъекционных форм в медицинской практике // Фармация. – 2003. – №3. – С.42-45.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. *Р.У. Хабриева* – М.: Медицина, 2005. – С. 421-427.

Закономерности изменений экспрессии рецептора CD95-молекулы клеток системы иммунобиологического надзора (опосредующей апоптоз) у людей, постоянно проживающих в условиях большого мегаполиса

Н.Е.Сурнакова

Институт клинической фармакологии ФГУ НЦ ЭСМП Росздравнадзора, Москва

В настоящее время представляет интерес характеристика структуры и функции клеток системы иммунобиологического надзора (ИБН); видов и биологической роли кластеров дифференцировки (CD-молекул) клеток этой системы; закономерностей изменений фенотипа лейкоцитов (по характеру и динамике экспрессии ими CD-молекул), особенностей инициации апоптоза поверхностной CD95-молекулой у людей, постоянно проживающих в условиях мегаполиса.

Цель. Изучение последствий влияния эколого-биогеохимических факторов среды на состояние здоровья человека, его системы иммунобиологического надзора, на экспрессию рецептора CD95, опосредующего апоптоз и уровень резистентности организма к факторам большого мегаполиса. Активное техногенное вмешательство человека в естественные природно-ресурсные процессы привело к появлению искусственных биогеоценозов, нарушению естественных экологических связей и развитию различных форм патологии, в том числе, ранее не встречавшихся. Накапливается все больше фактических данных об изменениях в системе ИБН в результате адаптации человека к условиям искусственных биогеоценозов. Недостаточность адаптивных

процессов нередко сочетается с развитием иммунопатологических состояний: иммунодефицитов, аллергии, иммуноагрессивных болезней. Представляют интерес данные о закономерностях изменений фенотипов клеток ИБН у здоровых людей при их длительной адаптации к условиям большого мегаполиса.

Материалы и методы

Основным тест-объектом служили лимфоциты, которые выделяли из образцов гепаринизированной крови в градиенте концентрации верографин-фиколла (Фримель Г. 1987). С целью дифференцировки фенотипов лимфоцитов использовали моноклональные антитела к поверхностным CD-молекулам лимфоцитов человека.

Окрашивание лимфоцитов проводили по методике Jackson A. et. al. (1986) и исследовали методом проточной цитометрии на флуориметре FACScalibur («Becton Dickinson», USA, 1998) с аргоновым лазером ($\lambda=488$ нм), определяя как абсолютное количество так и процент флуоресцирующих лимфоцитов, экспрессирующих определенный тип CD-молекул. В каждом образце изучали по 10000 лимфоцитов, используя программу скрининга «Cellquest».

Результаты и их обсуждение

В работе обследованы 253 условно-здоровых волонтера: 171 женщина и 82 мужчины (средний возраст $42 \pm 6,5$ лет), постоянно проживавших в Центральном административном округе Москвы. Фенотипические изменения клеток системы ИБН оценивали путем качественного и количественного определения экспрессии различных CD-молекул на мембранах лейкоцитов. Показано совпадение уровней экспрессии у них ряда CD-молекул с данными по группе «норма», представленных международной комиссией экспертов по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека. В наших исследованиях у жителей мегаполиса выявлено два закономерных факта. Первый факт, более чем в два раза меньшая (по сравнению с нормой), статистически значимая, степень экспрессии молекул CD22 (обеспечивающих адгезию В-лимфоцитов с клетками других пулов) и CD54 (молекула межклеточной адгезии ICAM-1). Одновременно с этим наблюдалось также снижение экспрессии молекул CD38 (на 23%), регулирующих ток Ca^{++} в клетки из межклеточного пространства, CD56, являющихся рецептором ICAM (на 20%) и CD72, представляющих собой лиганд В-лимфоцитов для молекул CD5, расположенных, в основном, на Т-лимфоцитах периферической крови (на 30%). Эти факты позволяют сделать заключение о существенном снижении у жителей мегаполиса степени кооперативного взаимодействия клеток системы ИБН в ответ на антигенный стимул, а также об уменьшении эффективности костимуляции клеток антигенными и неантигенными факторами.

Второй факт, более чем на 70% повышенный уровень экспрессии лимфо-

цитами жителей мегаполиса рецепторов CD95, опосредующих сигнал к началу апоптоза и играющих существенную роль в поддержании клеточного гомеостаза как в системе ИБН, так и в других клеточных генерациях. Последнее сочеталось с увеличением экспрессии молекул CD25 (компонент рецептора интерлейкина-2 на моноцитах, NK-, Т- и В- клетках), CD14 (рецептора для взаимодействия с липополисахаридами на моноцитах/макрофагах, гранулоцитах, дендритных клетках) и CD11b (рецептора активации компонента C3bi комплемента на гранулоцитах, моноцитах/макрофагах, NK-, Т- и В клетках). Кроме того, выявленные в работе факты (увеличение экспрессии молекул CD25, стимулирующих синтез цитокинов и инициирующих их реакции в организме; CD11b, активирующих фактор компонента C3bi и CD14- рецептора, взаимодействующего с эндотоксинами липополисахаридной природы), дают основания говорить о реальной возможности нарастания масштаба опсонизации чужеродных антигенов, активации ими гранулоцитов, моноцитов/макрофагов, а также фагоцитоза чужеродных антигенов и их «процессинга».

Выводы

Полученные данные свидетельствуют о наличии у здоровых людей, адаптирующихся к условиям мегаполиса, лейкоцитов с повышенным количеством рецепторов, инициирующих апоптоз, а также CD-молекул на клетках системы ИБН, участвующих в реализации воспалительной и иммунопатологических реакций. Это чревато развитием различных форм патологии: иммунодефицитов, аллергии, болезней иммунной аутоагрессии, пато-

логической толерантности и других, а также их последствий – инфекционных и онкологических заболеваний. Указанные изменения аргументируют также заключение о необходимости мониторинга состояния системы ИБН, уров-

ня экспрессии ее клетками CD-молекул (оптимально CD11b, CD14, CD22, CD25, CD38, CD54, CD56, CD72 и, особенно, CD95), у здоровых людей длительное время проживающих в условиях большого мегаполиса.

Особенности доклинической оценки безопасности фиксированных комбинаций лекарственных средств

Р.Д.Сюбаев

Научный центр экспертизы средств медицинского применения Росздравнадзора, Москва

Одной из важных проблем современной фармакотерапии является безопасность применения генерических лекарственных средств (ЛС) в составе комбинированных препаратов. В последние годы, наряду с созданием оригинальных ЛС, обладающих принципиально новыми механизмами действия, у производителей возник повышенный инновационный интерес к созданию новых комбинированных препаратов на основе фиксированных комбинаций генерических ЛС. Перспективность этого направления обусловлена возможностью «конструирования» фармакотерапии с заданным оптимальным профилем эффективности и безопасности. Вместе с тем, комбинированная терапия может быть вынужденной и заведомо нерациональной с точки зрения безопасности. Возможное количественное изменение токсических эффектов при взаимодействии ЛС может привести к усилению побочного действия и развитию серьезных осложнений при обычном режиме дозирования. Необходимо также учитывать скрытую опасность развития непрогнозируемых токсических эффектов с качественным

изменением ожидаемого спектра токсичности комбинации ЛС. Отсутствие единого методологического подхода к оценке безопасности лекарственного взаимодействия в целом, а также специальных методических рекомендаций в настоящее время является причиной неадекватности исследований комбинаций ЛС.

Цель. Разработка методических рекомендаций по доклинической оценке безопасности взаимодействия ЛС.

Материалы и методы

Разработка теоретических положений методологического подхода; анализ данных, содержащихся в отечественных и зарубежных методических документах [1, 4, 5]; результатов собственных исследований [2, 3] и результатов экспертизы материалов по оценке безопасности ЛС. (* фрагмент диссертационной работы).

Результаты и их обсуждение

Предлагаемый методологический подход включает два взаимосвязанных направления: прогнозирование и экс-

периментальное изучение комбинаций ЛС. Применение гомеостатической теории механизма взаимодействия позволило обосновать принципиальное значение и необходимость анализа взаимодействия ЛС в комбинации как при прогнозировании, так и экспериментальном изучении с целью выявления количественных и качественных эффектов (антагонизм, потенцирование, новые уникальные эффекты самой комбинации). В основу аналитического алгоритма положен принцип аддитивности токсического действия, который используется в качестве отправной гипотезы прогнозирования и интерпретации экспериментальных данных с помощью рекомендуемых методов оценки острой (по Finney D.J., Loewe S.) и субхронической токсичности (сравнение прогнозируемого и фактического спектра токсичности комбинации). Предложенный алгоритм прогнозирования с использованием перечня основных критериев и факторов риска позволяет определить ожидаемый спектр токсичности комбинации и оценить априори токсикологическую адекватность режима дозирования и риск взаимодействия ЛС в конкретной комбинации. Предлагаемый в качестве прогностического критерия «комбинаторный фактор» определяет константу вариантного разнообразия моделей взаимодействия в зависимости от количества ЛС в комбинации. Компоненты лекарственной комбинации имеют различные фармакокинетические и фармакодинамические характеристики, поэтому в разных диапазонах доз могут оказывать разные эффекты и по-разному взаимодействовать друг с другом. Вследствие этого отдельные эффекты взаимодействия в многокомпонентных комбинациях могут иметь несколько или множество по-

рогов при разных дозовых соотношениях, т.е. эффекты взаимодействия могут иметь существенные различия даже при изменении количественного соотношения ЛС в одной и той же комбинации. Важнейшее значение для прогнозирования имеют критерии токсикологического, фармакологического и фармакокинетического взаимодействия. Прогнозирование не заменяет экспериментальной и клинической оценки безопасности комбинаций ЛС, а лишь служит обоснованием для оптимизации и сокращения программы доклинических исследований или возможности клинического применения комбинации ЛС при допустимом уровне риска. В связи с этим, полное доклиническое изучение токсичности комбинации следует считать с точки зрения безопасности предпочтительным во всех случаях. Вместе с тем, роль прогнозирования незаменима на начальном этапе исследований и разработки рациональных комбинаций ЛС. Неизбежность использования методов прогнозирования связана также с громоздкостью дизайна исследований поликомпонентных комбинаций. Основной аналитический принцип исследования токсикологического взаимодействия заключается в сравнении токсических эффектов комбинации ЛС с эффектами отдельных ЛС, входящих в состав комбинации. Стандартная программа токсикологических исследований включает изучение общетоксического действия (острая и субхроническая токсичность) и специфических видов токсичности (мутагенность, репродуктивная токсичность, алергизирующее действие, иммунотоксичность, канцерогенность) комбинации ЛС и отдельных компонентов. Полное токсикологическое исследование комбинации может быть рекомендовано для оригинальных

комбинаций, состоящих из новых малоизученных компонентов или для новых комбинированных препаратов, которые предназначаются для широкого медицинского применения (в т.ч. безрецептурного). Оптимизированная программа допускает исследование комбинации ЛС в сокращенном объеме, с учетом имеющихся сведений о доклиническом и клиническом изучении и медицинском применении комбинации и отдельных ЛС (в т.ч., для устранения «пробелов» предшествовавших токсикологических исследований). С точки зрения доказательности сокращенные исследования могут быть приемлемы для обоснования безопасности клинических исследований или ограниченного медицинского применения в случаях, когда польза значительно превышает риск потенциального токсикологического взаимодействия.

Результаты адекватной доклинической оценки безопасности лекарственных комбинаций должны содержать прогностическое и полноценное экспериментальное обоснование: токсикологической совместимости ЛС в комбинации; профиля токсичности комбинации; характера и риска токсикологического взаимодействия; безопасности режима дозирования отдельных ЛС и комбинации в целом; специальных рекомендаций по безопасному применению данной комбинации; ожидаемой клинической пользы данной комбинации ЛС, подтверждающей целесообразность ее применения и разработки.

Выводы

Разработанные методические рекомендации определяют стратегию доклинической оценки безопасности комбинаций ЛС с помощью сбалансированного сочетания методов прогнозирования и экспериментального исследования.

Список литературы

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, 2-е изд., пер.и доп. (под общ. ред. *Р.У.Хабриева*). – М.: «Медицина», 2005.
2. *Гуськова Т.А., Сюбаев Р.Д.* Влияние комбинаторного фактора на достоверность теоретического прогноза эффектов многокомпонентного токсикологического взаимодействия. Токсикологический вестник. – 2003. – № 4. – С.2-11.
3. *Сюбаев Р.Д.* Гармонизация подходов к доклинической оценке безопасности лекарственного взаимодействия; III съезд токсикологов России 2-5 декабря 2008 г. Тезисы докладов. – С.528-529.
4. Guidance for Industry Nonclinical Safety Evaluation of Drug or Biologic Combinations. FDA, CDER, March 2006.
5. Guideline on the non-clinical development of fixed combinations of medicinal products London, 24 January 2008 (Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/258498/2005).

НО-ергическая активность сосудодвигательного центра продолговатого мозга на фоне коррекции гипотензивными препаратами

А.В.Тыртышникова, Е.В.Елисеева, И.В.Дюйзен¹, Е.Ф.Романченко

Владивостокский государственный медицинский университет, Владивосток

¹ – *Институт биологии моря ДВО РАН, Владивосток*

Продолговатый мозг играет важную роль в регуляции гемодинамики, ядра, которого участвуют в формировании бульбарного вазомоторного центра. Повышенная активность бульбарного вазомоторного центра при артериальной гипертензии (АГ) связана с усилением адренергических процессов внутри мозгового ствола [1]. Большое количество катехоламинсодержащих нейронов расположено в области ядра солитарного тракта – области, где локализованы нейроны, являющиеся вторичными афферентными нейронами барорефлекторной рефлекторной дуги [2]. Ядра одиночного пути контролируют многие сердечно-сосудистые, дыхательные и нейроэндокринные функции [4, 5].

Цель. Изучение нитроксидергической активности сосудодвигательного центра продолговатого мозга на фоне коррекции гипотензивными препаратами в условиях эксперимента.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 90 здоровых белых нелинейных крысах-самцах со средним весом 250 г. Всем животным формировали модель экспериментальной нефрогенной гипертензии. Начиная с 28 дня после операции, животным 1-3 групп проводили коррекцию: 1 группе пропранолол (2 мг/кг), 2 группе эналаприлат (0,3 мг/кг/6 часов), 3 группе верапамил (0,1 мл/кг). Контролем служили животные, не подвергавшие-

ся оперативным воздействиям (n=5). В качестве второго контроля использовались 5 ложнооперированных крыс, которым аналогичным способом в почки вводили физиологический раствор. Использовали метод на NADPH-диафорузу (NADPH-d), предложенный Норе, Vincent (1989), программное обеспечение Adobe Photoshop 7.0 и Image J. Количественную оценку ферментативной активности определяли, измеряя плотность преципитата гистохимической реакции с помощью видео-компьютерной системы Panasonic, смонтированной на микроденситометре Jenaval Carlzeiss Jena Германия. Цифровую обработку изображения проводили в программах Adobe Photoshop 7.0 и Microsoft Excel 97. Активность фермента выражали в единицах оптической плотности (ЕОП). Для статистической обработки использовался пакет прикладных программ Statistica 6.0 фирмы StatSoft Inc. Измерение АД у экспериментальных животных проводили ежедневно в утренние часы с помощью системы неинвазивного мониторинга кровяного давления ML U/4c 501 (Medlab, Китай) и Meter LE-5001 (Испания).

Результаты и их обсуждение

При повышении артериального давления (АД) можно выделить 2 фазы изменений нитроксидергической активности. В первую неделю в кардиоваскулярных отделах ядра одиночного пучка на-

блюдалось снижение гистохимической активности и уменьшение количества NADPH-d-позитивных нейронов; на 2-ой неделе АГ отмечено увеличение в нейронах активности NOS. Повышенный тонус вазомоторного центра, определяемый активностью холинергических процессов, связан с уровнем локальной концентрации NO в ядрах блуждающего нерва [1, 3]. Можно полагать, что наблюдаемая со 2 недели эксперимента активация NADPH-диафоразы в nucl. tractus solitarii, свидетельствует об усиленном компенсаторном парасимпатическом влиянии в ответ на развитие АГ.

При коррекции все используемые в эксперименте препараты демонстрировали сходную активность. Их введение животным с АГ сопровождалось увеличением числа NADPH-d-позитивных нейронов и возрастанием их активности в ядре одиночного пучка, а в дорсальном ядре вагуса увеличение NADPH-d-позитивной популяции нейронов сопровождалось снижением их гистохимической активности. Этим свойством отчасти, можно объяснить развитие ваготонических эффектов препаратов.

Выводы

В условиях экспериментальной нефрогенной гипертензии в сосудодвигательном центре продолговатого мозга отмечены NO-модулирующие эффекты пропранолола, эналаприлата и верапамила.

Список литературы

1. **Цырлин В.А., Хрусталева Р.С.** Роль адренергических механизмов мозгового ствола и спинного мозга в центральной регуляции кровообращения // Вестн. аритмологии. – 2001. – № 22. С. 75-80.
2. **Цырлин В.А.** Бульбарный вазомоторный центр – морфофункциональная и нейрохимическая организация // Артериальная гипертензия. – 2003. – Т.9, № 3. С. 77-81.
3. Cardiovascular regulation and expressions of NO synthase-tyrosine hydroxylase in nucleus tractus solitarius of ovine fetus / **S.-X. Ma, et al.** // Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 284. – P. 1057-1063.
4. Nitric oxide – synthesizing

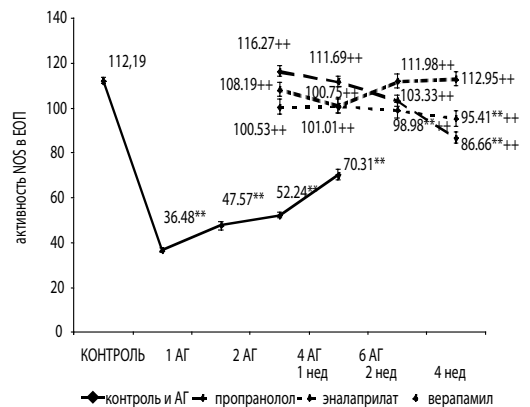
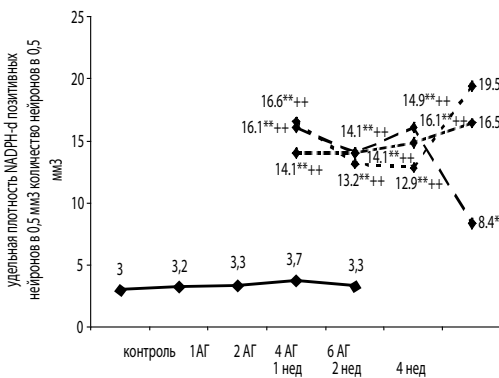


Рис. Изменение числа (А) и показателей гистохимической активности (Б) NADPH-d-позитивных нейронов медиального подъядра nucl. tractus solitarius при коррекции гипотензивными препаратами. Достоверность различий по отношению к контролю: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,0001$; по отношению к нефрогенной гипертензии 4 недели: + - $p < 0,05$; ++ - $p < 0,0001$.

neurons in the central subnucleus of the nucleus tractus solitarius provide a major innervation of the rostral nucleus ambiguous in the rabbit / *W.P. Gai, J.P. Messenger, Y.H. Yu, Z.J. Gieroba, W.W. Blessing* // J. Comp. Neurol. – 1995. – Vol. 357, No. 3. – P. 348-361.

5. Nitric oxide reduces blood pressure in the nucleus tractus solitarius: A real time electrochemical study / *W.C. Wu, Y. Wang, L.S. Kao, F.I. Tang, C.Y. Chai* // Brain Research Bulletin. – 2002. – Vol. 57, No. 2. – P. 171-177.

Доклиническое фармакологическое изучение относительной плотности (удельного веса) гнойных экссудатов при эмпиеме плевры

А.Л.Ураков, Р.И.Таджиев, Б.Г.Юшков, В.Б.Дементьев, Л.П.Ларионов, Н.А.Забокрицкий, С.А.Кривопапов

Институт прикладной механики УрО РАН, Екатеринбург

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург

Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

Возможность изучения макро- и микроструктуры гнойных масс под влиянием лекарств с учетом их физико-химических свойств, а также в условиях визуализации процесса медикаментозного инфильтрирования гнойных масс и при целенаправленном изменении положения туловища пациента в пространстве, может вскрыть резервы повышения их разжижающей и «промывочной» активности, повысить эффективность промывания гнойных ран и полостей, а также может оптимизировать хирургическое лечение больных с туберкулезной эмпиемой плевры.

Как свидетельствуют проведенные нами исследования, низкая промывочная и разжижающая активность современных антисептических и дезинфицирующих растворов может быть обусловлена, в частности, их высокой кислотностью, низким удельным весом, низким температурным режимом, низкой способностью диффузии в гнойные массы и отсутствием способности приводить к внутритканевому кипению гноя [1,2].

Согласно литературным данным величина относительной плотности (удельного веса) плевральных экссудатов составляет 1,012-1,040 г/см³ [3]. Непосредственное измерение густого гнойного отделяемого плевральной полости при эмпиеме плевры связано с определенными трудностями. Консистенция гнойного экссудата не позволяет производить измерение с помощью ареометра.

Цель. Изучить влияние такого показателя, как относительная плотность (удельный вес) на абрационные и флотационные свойства гнойного экссудата при эмпиеме плевры.

Материалы и методы

Величина относительной плотности (удельного веса) экссудативного отделяемого плевральной полости определена при помощи ареометра АУ ГОСТ 18481-81 20°С кг/м³ № 49 имеющего деления от 1000 до 1050. Измерения проведены при температуре 20°С, что соответствует калибровке урометра. Определение величины удельного веса густых и очень

Показатели удельного веса гнойных экссудатов обладающих выраженными визуальными признаками нагноения в зависимости от консистенции (M±m, n=97)

Критерии оценки экссудата	Неспецифическая эмпиема (n=39)			Туберкулезная эмпиема (n=58)		
	г/см ³	абс. число	%	г/см ³	абс. число	%
Консистенция экссудата						
Жидкий	1,037±0,0003	32	82,1	1,035±0,0004	3	5,2
Густой	1,027±0,0008	5	12,8	1,026±0,0003	6	10,3
Очень густой	1,028±0,0007	2	5,1	1,027±0,0009	49	84,5
Гнилостный запах						
Наличие гнилостного запаха	1,041±0,0008	8	20,5	1,039±0,0006	4	6,9

густых гнойных экссудатов традиционными методами, в том числе с использованием ареометра, сопряжено со значительными трудностями, а зачастую просто не представляется возможным. Для этих целей использован метод Ф. Слайка в модификации Г.А.Барашкова, применяемый для определения показателей удельного веса крови. Полученный из плевральной полости гнойный субстрат по капле вносили в стеклянные пробирки с заранее приготовленными растворами медного купороса с показателем удельного веса от 1,005 до 1,050. В том растворе, где капля «зависла», удельный вес раствора медного купороса соответствовал удельному весу гноя.

Результаты и их обсуждение

В таблице представлены показатели удельного веса экссудатов обладающие выраженными визуальными признаками нагноения.

Выводы

Наибольший удельный вес имеют гнойные экссудаты жидкой консистенции с диапазоном от 1,035±0,0004 г/см³

до 1,037±0,0003 г/см³, а имеющие гнилостный запах, от 1,039±0,0006 г/см³ до 1,041±0,0008 г/см³. Густые и очень густые гнойные экссудаты имеют диапазон удельного веса от 1,026±0,0003 г/см³ (густой экссудат туберкулезной этиологии) до 1,028±0,0007 г/см³ (очень густой экссудат нетуберкулезной этиологии).

Следует заметить, что изменение величины удельного веса гнойных экссудатов зависит от их консистенции и мало зависит от этиологии воспаления.

Список литературы

1. **Соколов В.А.** Плевриты. Екатеринбург: Баско, 1998. – 240 с.
2. **Light R.W.** The in vitro efficacy of varidase versus streptokinase or urokinase for liquefying thick purulent exudative material from loculated empyema. / R.W. Light, T. Nguyen, M.E. Mulligan, S.A. Sasse // Lung 2000;178:13-18.
3. **Light R.W.** Parapneumonic effusions and empyema // Proc. Am. Thorac. Soc. 2006; Vol. 3. pp 75-80.

Экспериментальное изучение нового антисептического средства

А.Л.Ураков, Б.Г.Юшков, Н.А.Забокрицкий, Р.И.Таджиев,
Л.П.Ларионов, В.Б.Дементьев, С.А.Кривопапов

Институт прикладной механики УрО РАН, Екатеринбург

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург

Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

Изменения макро- и микроструктуры гнойных масс под воздействием растворов лекарственных средств, обладающих определенными физико-химическими показателями качества, остается не изученной, поэтому гнойные раны и полости промываются препаратами без учета их показателей качества [1]. Причем в гнойную полость при туберкулезной эмпиеме плевры нередко вводятся те же препараты, что и в вену.

Предлагаемый экспериментальный образец средства для разжижения густого и липкого гноя, может быть введен в полость, заполненную густыми гнойными массами, и оставлен в ней на 5-10 минут для быстрого разжижения гноя за счет его омыления на границе сред посредством оптимальной щелочности при одновременном утоплении раствора в гное под силой гравитации. Проникновение раствора вниз (под гнойные массы), происходит, с одной стороны, за счет силы тяжести, поскольку удельный вес раствора выше удельного веса гноя, а с другой стороны, за счет процесса эффективного физико-химического разжижения и аэрогидродинамического разрушения гноя на границе разделения сред, происходящего в слое гнойной массы, расположенной как под раствором, так внутри и над раствором за счет омыления гноя щелочным средством и за счет внутригнойного (внутриканевого) «кипения» раствора при диффузии раство-

ра, содержащего перекись водорода, в гнойную массу [2,3].

Цель. Оценить *in vitro* промывочную активность экспериментальных образцов антисептических средств.

Материалы и методы

Для изучения воздействия растворов на гнойные массы и изменений макро-структуры гнойных масс нами предложен авторский «Способ экспресс-оценки промывочной активности лекарств». Подана заявка на получение патента на изобретение. Для моделирования санации использованы стандартные стеклянные прозрачные пробирки объемом по 20,0 мл. Пробирки установили вертикально в лабораторный штатив. На пробирки нанесли две метки: первая, указывающая уровень необходимый для заполнения пробирки гнойным содержимым и соответствующая 1/5 объема пробирки и вторая соответствующая 1/2 объема пробирки для заполнения раствором. Таким образом, необходимый для исследования объем гнойного содержимого составил 2,0 мл, а объем добавляемого раствора 8,0 мл.

Результаты и их обсуждение

Для визуализации эффективности предложенного средства представлена серия рисунков. Используя предло-

женный нами способ экспресс-оценки промывочной активности растворов дезинфицирующих и лекарственных средств, проиллюстрирован процесс оценки эффективности. Для сравнения взяты исследованные ранее растворы: раствор фурацилина (1:5000), раствор 0,9% натрия хлорида, раствор 4% натрия гидрокарбоната и раствор 3% перекиси водорода насыщенный 4% натрием гидрокарбонатом. На рисунке

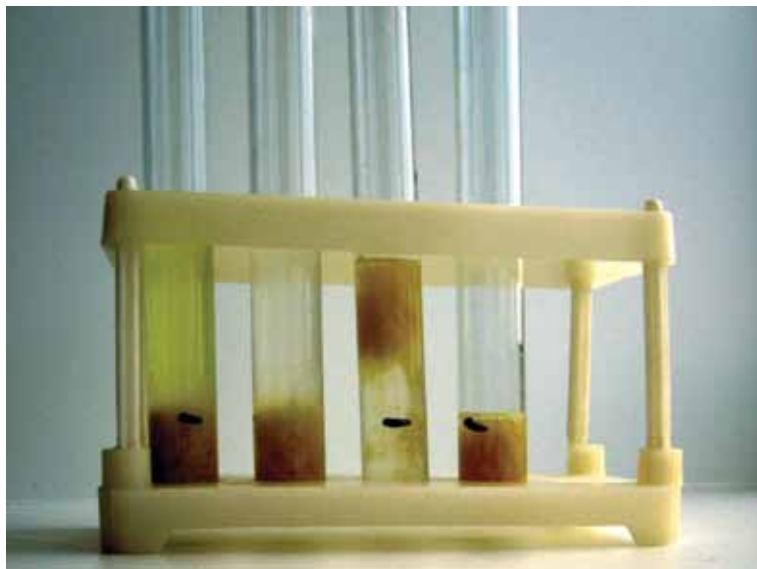


Рис. Оценка промывочной активности растворов (слева на право): 1 – р-р фурацилина (1:5000); 2 – р-р 0,9% натрия хлорида; 3 – р-р 4% натрия гидрокарбоната; 4 – р-р 3% перекиси водорода насыщенный 4% натрием гидрокарбонатом.

представлен процесс добавления предложенного нами «средства для разжижения густого и липкого гноя». В пробирки добавили густой гнойной субстрат, эвакуированный из полости туберкулезной эмпиемы плевры. Раствор фурацилина (1:5000) добавлен в пробирку №1. В пробирку №2 добавлен раствор 0,9% натрия хлорида. Раствор 4% натрия гидрокарбоната добавлен в пробирку №3. «Средство для разжижения густого и липкого гноя» (экспериментальный образец) добавлено в пробирку №4.

На рисунке отражено положение густого гнойного субстрата через 1 минуту после добавления в пробирки раствора фурацилина (1:5000), раствора 0,9% натрия хлорида и раствора 4% натрия гидрокарбоната. В первой и второй пробирках гной находится на дне с четкой гра-

ницей гной-раствор. В третьей пробирке отчетливо наблюдается эффект абрапции с «растягиванием» густого гнойного субстрата и его флотацией. Отмечается продолжающийся абрапционный процесс, переходящий в фазу флотации.

Выводы

Экспериментальный образец нового антисептического средства, предназначенное для санации гнойных полостей, представляющий собой водный раствор состоящий из 5-10% гидрокарбоната натрия и 2,7-3,3 % перекиси водорода, обладает высоким удельным весом, щелочностью и газированностью, что приводит к проявлению новых свойств, таких как абрапция, суспензирование, флотация, а так же выраженному пиолитическому действию.

Изучение антибиотикорезистентности некоторых пробиотических штаммов

Е.С.Филиппова, Н.А.Забокрицкий, А.В.Молдованов

*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург
Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург*

В последнее время отмечено увеличение популяций антибиотикорезистентных культур лактобактерий и сенной палочки, так как популяризация антибактериальной терапии среди населения способствует отбору и циркуляции резистентных форм микроорганизмов. Обычно процедура мониторинга основана на анализе антибиотикограмм исследуемых культур по единой методике. На сегодняшний день такой методикой является рекомендация NCCLS – Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США. Согласно данным рекомендациям, чувствительность сначала определяют диско-диффузионным методом на чашках с агаром, затем определяют минимальную подавляющую концентрацию (МПК) макро- и микрометодом с помощью серийных разведений.

Мониторинг антибиотикорезистентности штаммов бацилл и молочнокислых бактерий позволяет получить сведения о локальном уровне устойчивости исследуемых производственных штаммов к наиболее распространенным антибиотикам с последующим обоснованием конструирования на их основе бактериальных препаратов с возможностью применения в процессе этиотропной антибактериальной терапии.

На сегодняшний день активность различных антибактериальных соединений в отношении бацилл и лактобацилл изучена мало, но тем не менее в последнее время отмечено увеличение популя-

ций антибиотикорезистентных штаммов. Вопрос этот чрезвычайно актуален, так как эти микроорганизмы входят в состав препаратов, предназначенных для лечения кишечных инфекций и дисбактериозов различных полостей. Использование пробиотиков на основе антибиотикорезистентных штаммов в сочетании с антибиотиками при комплексной терапии целого ряда заболеваний позволило бы составить принципиально новые тактические схемы лечебной коррекции и профилактики дисбиотических состояний.

Цель. Изучить антибиотикоустойчивость штаммов микроорганизмов-пробионтов, наиболее широко применяемых в конструировании пробиотических и эубиотических препаратов.

Материалы и методы

Для определения антибиотикорезистентности на основании репрезентативной выборки, согласно уровню антагонистической активности, было отобраны следующие штаммы: *Bacillus subtilis* 59T (В-9907), *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 и *Lactobacillus acidophilus* 100-АШ. Все штаммы депонированы во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов.

Чувствительность пробиотических штаммов к антибиотикам изучали диско-диффузным методом (ДДМ) при использовании стандартных дисков, питанных антибиотиками (М.О.

Биргер, 1982; Меньшикова В. В., Ворopaева С. Д., 1987). Сравнительное изучение резистентности пробиотических штаммов осуществляли к ряду из 23 ан-

Результаты и их обсуждение

Результаты представлены в таблице.

Таблица

Антибиотикорезистентность исследуемых штаммов. Зона задержки роста микроорганизмов-пробионтов, мм ($M \pm m$, $n=20$)

Штамм	Антибиотик					Пенициллины			Цефалоспорины			Фениколы	Макролиды		Аминогликозиды					Тетрациклины		Синтетические противомикробные			Нитрофураны
	Пенициллин	Ампициллин	Оксациллин	Карбенициллин	Имипенем	Цефотаксим	Цефазолин	Цефтазидим	Цефепим	Левомецетин	Эритромицин	Макропен	Стрептомицин	Неомицин	Гентамицин	Тобрамицин	Канамицин	Доксициклин	Левовфлоксацин	Офлоксацин	Линкомицин	Нитроксалин	Фуразолидон		
<i>B. subtilis</i> 59T	8	16	-	-	-	11	19	-	-	10	12	16	11	9	10	9	12	18	-	-	12	+	+		
<i>L. plantarum</i> 8P-A3	+	23	+	+	22	+	12	8	3	29	18	20	+	14	+	+	+	17	-	15	28	4	+		
<i>L. acidophilus</i> 100-AШ	+	31	+	+	30	+	+	+	13	19	14	17	+	11	+	+	+	21	-	25	13	+	+		

Примечание: «+» – штамм микроорганизма – пробионта устойчив к воздействию антибиотика в терапевтической концентрации (нет задержки роста исследуемого штамма).

«-» – штамм микроорганизма – пробионта неустойчив к воздействию антибиотика в терапевтической концентрации (нет роста исследуемого штамма).

Резистентными считали штаммы, зона задержки роста которых составляла 0-5 мм, малочувствительными – 6-10 мм, чувствительными – 11-20 мм, высокочувствительными – более 20 мм.

тибиотиков и синтетических противомикробных средств (группы фторхинолонов и нитрофуранов) позволило выявить значительные межштаммовые различия. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента в программном пакете Microsoft office – Excel 2003. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Выводы

На основании результатов проведенных исследований по изучению антибиотикорезистентности пробиотических штаммов можно сделать следующие выводы, что наибольшей антибиотикоустойчивостью обладают штаммы *L. plantarum* 8P-A3 и *L. acidophilum* 100-AШ к препаратам пенициллинового ряда (кроме ампициллина), аминогликозидам (кроме неомицина), цефотаксиму и фу-

разолидону. Наименьшей антибиотикоустойчивостью обладает штамм *Bacillus subtilis* 59Т (В-9907).

Таким образом, эволюционно закрепившаяся природная резистентность микроорганизмов-пробионтов к антибиотикам является важным фактором при отборе культур для создания и промышленного производства про- и эубиотиков. Анализируя литературные данные

и результаты собственных исследований, можно сделать выводы, что устойчивость бактерий к антибиотикам является характеристическим признаком конкретного штамма микроорганизма. Данные антибиотикорезистентности необходимо обязательно учитывать при отборе штаммов для конструирования препаратов про-, эуб- и синбиотиков, а также биологически активных пищевых добавок.

Особенности воспалительных изменений мокроты у курильщиков и при отказе от курения

А.Л.Хохлов, Н.В.Смирнова

Кафедра клинической фармакологии Ярославской государственной медицинской академии, Ярославль, Россия

Курение табака является одной из актуальных проблем здравоохранения. Атака табачного дыма и его составляющих приводит к развитию воспаления слизистой оболочки дыхательных путей, нарушением мукоцилиарного клиренса и ограничению воздушного потока, что приводит к развитию глубокоиinvalidизирующего заболевания – ХОБЛ. Изучение механизмов ее развития привело к тому, что первым шагом в лечении должен быть отказ от курения.

Цели работы. 1. Оценить особенности реологических свойств мокроты и ее микробиологических характеристик у курильщиков и при отказе от курения на основе клинико-инструментальных и лабораторных показателей.

2. Провести комплексное клиническое обследование курильщиков, включающее общеклинические, инструментальные и лабораторные методы исследования.

3. Оценить влияние табачного дыма на изменения реологических свойств мо-

кроты и выраженности ее воспалительных характеристик.

4. Оценить влияние различных вариантов бронхолитической терапии на улучшение симптоматики, воспалительных изменений мокроты при отказе от курения.

Материалы и методы

Обследовано 100 курящих пациентов, находящихся на отказе от курения. Контрольная группа – 20 практически здоровых лиц (никогда не курили), 30 – курильщиков, не бросающих курить и получающих бронхолитическую терапию. В исследование включены пациенты: 73 мужчины и 22 женщины в возрасте от 17 до 73 лет (в среднем 45 лет), со стажем курения в среднем 23 пачек/лет и клинически подтвержденным диагнозом: Хронический бронхит, ХОБЛ легкой, средней и тяжелой степени. Проведено открытое рандомизированное сравнительное исследование. Рандомизация больных методом случайной выборки на 2

группы по 50 человек, в зависимости от характера бронхолитической терапии. Первая группа получала формотерол (форадил «NOVARTIS») в дозе 24 мг/сут. Вторая – тиотропия бромид (Спирива, «Boeringer Ingelheim») в 18 мг/сут. Общая длительность наблюдения – 6 месяцев с промежуточным контролем эффективности проводимой терапии через 4 недели после начала лечения. Дизайн исследования: Первое посещение: скрининговое обследование курящих пациентов – анкетирование, спирографическое исследование. Второй визит – рандомизирование по группам, на фоне полного отказа от курения назначались в первой группе – формотерол, второй – тиотропиум бромид, с ежемесячным осмотром, спирографией и бронхолитическим тестом, мониторингом СО и НвСО, пульсоксиметрией и лабораторными обследованиями: общим анализом мокроты и ее микрофлоры.

Материалы и методы

1. Общеклинические: исследование легочной системы: границы легких, изменение экскурсии грудной клетки, наличие хрипов, признаки легочной недостаточности.

2. Функция внешнего дыхания (ФВД) методом спирографии во время каждого визита с анализом показателей: форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), ОФВ1, ОФВ1/ФЖЕЛ, MVV, пробы на обратимость бронхиальной обструкции в соответствии с рекомендациями GOLD 2003г.

3. Пульсоксиметрия для оценки концентрации кислорода в капиллярной крови.

4. Мониторинг СО и НвСО в выдыхаемом воздухе и крови у курящих пациентов и на отказе от курения.

5. Лабораторные методы: исследо-

вание общего анализа мокроты, полученной методом провокации (гипертонический раствор) и ее микробиологических особенностей.

Результаты и их обсуждение

Всего были рандомизированы 100 пациентов: из них диагноз хронический бронхит ХОБЛ исходно выставлялся у 78%, 1ст – 10%, 2ст – 8%, 3ст – 4%. Демографические и функциональные показатели пациентов, применяемые пульмонологические препараты сопоставимы. Все пациенты при первичном осмотре предъявляли жалобы на кашель по утрам с продукцией мокроты (100%), одышку при физической нагрузке (70%), в общем анализе мокроты определялись признаки воспаления (содержание лейкоцитов от 5-10 до 60 и выше) и нарушения мукоцилиарного клиренса (повышение вязкости мокроты, ее прозрачности, изменение характера в сторону гнойности), нарушение проходимости бронхиального дерева при спирографии, повышение уровня угарного газа в выдыхаемом воздухе и крови. Через 4 недели в группе, отказавшихся от курения, происходило увеличение показателей спирометрии (ОФВ1) на 13% ($p < 0,05$), в группе продолжающих курить на 2% ($p < 0,05$). Достоверной разницы в приросте показателей ОФВ1 в группах формотерола и тиотропия бромида выявлено не было. При проведении бронхолитической пробы увеличение ОФВ1 в группе формотерола был существенно выше – 11% ($p < 0,05$), чем в группе тиотропия бромида – 3% ($p < 0,05$). В группе, отказавшихся от курения, уровень угарного газа снижался до нуля, нормализовался общий анализ мокроты и происходила стерилизация ее микрофлоры. Клинически улучшалось общее самочувствие – кашель и отделение мо-

кроты значительно уменьшились или не беспокоили, одышка при физической нагрузке не отмечалась, увеличилась физическая активность, повысился уровень кислорода в крови. В группе, продолжающих курить – кашель несколько уменьшился, одышка осталась в полном объеме, была нарушена толерантность к физической нагрузке, в общем анализе мокроты присутствовали признаки воспаления, микрофлора представлена пнев-

мококком, титр которого не уменьшался в результате лечения. Уровень угарного газа отмечался на прежнем уровне.

Выводы

Таким образом, при полном отказе от курения и комплексном лечении хронического бронхита, наблюдается восстановление бронхиальной проходимости, нормализация анализа мокроты и ее микрофлоры, отсутствие угарного газа в выдыхаемом воздухе и крови.

Сенсорные электрохимические системы для анализа кардиомиоглобина

А.А.Шумков, Е.В.Супрун, В.В.Шумянцева, А.И.Арчаков

НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН, Москва

Ишемическая болезнь сердца – одно из основных заболеваний человека, значительно ухудшающее качество жизни и приводящее к летальному исходу. При некрозе миокарда содержимое погибшей клетки поступает в общий кровоток и может быть определено в пробах крови. На основе информации о концентрации белков – кардиомаркеров в крови можно поставить правильный и своевременный диагноз. Выбор маркеров некроза миокарда определяется, в первую очередь, их специфичностью для данного заболевания. Кардиомиоглобин является одним из самых ранних маркеров острого периода инфаркта миокарда. Он обнаруживается в крови спустя 1-3 часа после приступа и по уровню миоглобина можно судить об обширности очага некроза, а также о повторном инфаркте. Ранняя диагностика инфаркта миокарда позволяет не только спасать жизни, но и зна-

чительно легче перенести данное заболевание. Таким образом, разработка новой тест системы для ранней диагностики инфаркта миокарда и её персонализация одна из важнейших проблем современной клинической лабораторной диагностики.

Цель. Разработать электрохимический биосенсор на основе наночастиц золота и серебра для определения кардиомиоглобина в плазме крови.

Материалы и методы

В работе использовались следующие реактивы: антитела к кардиомиоглобину (USBiological anti-HMb, 1,05 мг/мл), кардиомиоглобин (USBiological Mb, 8,1 мг/мл) тетрахлорзолотая кислота (Sigma), нитрат серебра (Sigma), диметилдидециламмония бромид (Sigma), боргидрид натрия (Acros Organics), хлорид на-

трия (Sigma), сыворотка крови очищенная от миоглобина (US Biological). В работе были использованы трёх контактные печатные электроды. Измерения проводились с помощью потенциостата «PGSTAT Autolab». С программным обеспечением «GPES». Поверхность рабочего электрода модифицировали золотыми и серебряными наночастицами. Золотые наночастицы были получены двумя способами: электросинтезом и химическим синтезом. Серебряные наночастицы получали электросинтезом.

Инверсионная вольтамперометрия – метод электрохимического анализа, использующий предварительное концентрирование анализируемого компонента на рабочем электроде. В случае биосенсора, модифицированного золотыми наночастицами, аналитическим сигналом служил пик восстановления оксида золота, а серебряными наночастицами – пик окисления серебра.

Результаты и их обсуждение

На основе электродов модифицированных золотыми и серебряными наночастицами были сконструированы электрохимические биосенсоры на кардиомиоглобин. Для селективного определения именно кардиоизоформы белка использовали соответствующие антитела, которые закрепляли с помощью поверхностно-активного вещества диметилдидодециламмония бромида. Было показано, что формирование до-

полнительных слоёв поверх наночастиц золота и серебра приводит к изменению регистрируемого методом инверсионной вольтамперометрии сигнала металлов, что дает возможность определить наличие белка на поверхности электрода. Работоспособность системы была продемонстрирована на примере биоаффинной пары: кардиомиоглобин – антитела к кардиомиоглобину. Для всех типов биосенсоров были получены концентрационные зависимости определения кардиомиоглобина в модельных образцах сыворотки крови. На основе полученных данных рассчитывался коэффициент корреляции для каждого типа биосенсора. Для анализа образцов плазмы крови был взят биосенсор с наибольшим коэффициентом корреляции. С помощью биосенсоров на основе золотых наночастиц полученных химическим синтезом были проанализированы образцы плазмы здоровых доноров и образцы плазмы больных доноров ИМ (рис.). Концентрация кардиомиоглобина в данных образцах была предварительно измерена с помощью промышленно выпускаемого анализатора RAMP. Среднее относительного стан-

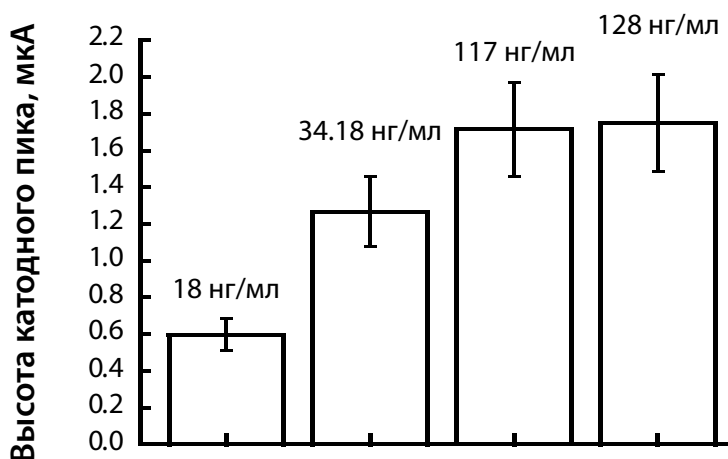


Рис. Зависимость высоты катодного пика восстановления золотых наночастиц для здоровых и больных доноров инфарктом миокарда.

дартного отклонения для таких биосенсоров составило 16%. Как видно из представленного рисунка, наблюдается достоверное различие между плазмой здоровых доноров и больных инфарктом миокарда для биосенсоров модифицированных коллоидными наночастицами.

Выводы

Показано, что биосенсор на основе наночастиц металлов может быть ис-

пользован для анализа биомолекул при модификации сенсорного элемента соответствующими антителами (на примере кардиомиоглобина).

Работа была выполнена при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям (гос. контракт № 02.740.11.0306).

Показатель кислотности гнойных экссудатов в химико-фармакологическом исследовании

Б.Г.Юшков, А.Л.Ураков, Р.И.Таджиев, Л.П.Ларионов,
Н.А.Забокрицкий, С.А.Кривопапов

*Институт прикладной механики УрО РАН, Екатеринбург
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург
Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург*

Значительное влияние на развитие и клиническое течение воспалительных процессов оказывают контакты организма с окружающей средой. Под воздействием температуры, влажности, кислотности могут меняться физико-химические показатели состояния тканей. Огромное значение для действия антисептиков и дезинфицирующих средств имеет кислотность, отражающая качество, а порой и действие растворов лекарственных средств [1, 2].

Исследования российских и зарубежных авторов показывают, что рН тканей также способен сохраняться на достаточно стабильном уровне за счет наличия буферных систем, которыми являются белки и фосфаты. Образующиеся в клетках в ходе процессов обмена веществ углекислота, молочная, фосфорная и другие кислоты, переходя из тканей в кровь, не вызывают обыч-

но значительных изменений ее активной реакции благодаря наличию буферных систем [3].

Показатели рН плевральных экссудатов используются в клинической практике для диагностики перехода серозного экссудата в серозно-гнойный. Общепринятой границей является показатель рН равный 7,20.

Цель. Изучить некоторые физико-химические показатели гнойных экссудатов в доклиническом эксперименте

Материалы и методы

Величина рН была определена потенциометрическим методом с помощью универсального ионометра ЭВ-74. В качестве электрода сравнения применен хлорсеребряный электрод заводского изготовления. В качестве активных электродов использованы стеклянные

протон-селективные электроды, рассчитанные на соответствующие диапазоны рН.

Для сравнения величину рН водных растворов дезинфицирующих средств определяли с помощью полосок универсальной индикаторной бумаги фирмы Lachema.

Измерение величины рН водных растворов лекарственных и дезинфицирующих средств производили при $25 \pm 2^\circ\text{C}$ через 2 минуты после погружения в них электродов согласно инструкции, прилагаемой к прибору. Для этого при калибровке прибора пользовались шкалой стандартных буферных растворов (Государственная Фармакопея СССР, 11-е изд., В1., М.: Медицина, 1987. 336 с.). Для измерения рН гнойных экссудатов плевральной полости использованы полоски универсальной индикаторной бумаги фирмы Lachema.

Результаты и их обсуждение

Нами произведена серия измерений показателей рН гнойных масс из плевральной полости больных эмпиемой плевры как неспецифической, так и туберкулезной этиологии с помощью полосок универсальной индикаторной бумаги фирмы Lachema. Учитывая предел точности метода, полученные результаты определены в сравнении с эталонной шкалой показателей рН в пределах 0,5.

Показатели величины рН в зависимости от консистенции и визуальных признаков нагноения полученного гнойного экссудата представлены в таблице.

Выводы

Полученные данные свидетельствуют, что гнойное отделяемое обладающее характерными признаками нагноения явля-

Таблица

Показатели величины рН гнойных экссудатов обладающих выраженными визуальными признаками нагноения в зависимости от консистенции ($M \pm m$, $n=97$)

Критерии оценки экссудата	Неспецифическая эмпиема (n=39)			Туберкулезная эмпиема (n=58)		
	рН	абс. число	%	рН	абс. число	%
Консистенция экссудата						
Жидкий	7,01±0,04	32	82,1	7,00±0,06	3	5,2
Густой	6,21±0,06	5	12,8	6,26±0,09	6	10,3
Очень густой	6,11±0,07	2	5,1	6,09±0,08	49	84,5
Гнилостный запах						
Наличие гнилостного запаха	6,21±0,05	8	20,5	6,30±0,07	4	6,9

ется кислым и имеет показатель рН в пределах от $6,09 \pm 0,08$ до $7,01 \pm 0,04$, что ниже пограничного критерия рН равного 7,20.

Таким образом, проведенные доклинические исследования по изучению физико-химических свойств гнойных экссудатов, в частности рН определили «закисление» экссудата ниже рН 7,20 и может быть определяющим критерием перехода серозного выпота в гнойный, с последующим формулированием диагноза эмпиемы плевры. В связи с этим достоверные изменения рН плеврального выпота менее 7,20 может являться точным прогностическим признаком перехода из экссудативной стадии в фибринозно-гнойную.

Список литературы

1. **Веткина И.Ф.** Современный подход к выбору дезинфицирующих средств в системе профилактики внутрибольничных инфекций (ВБИ) // «ФАРМиндекс Практик», 2005, вып. 7. 13-20 с.
2. **Стрелкова Т.Н.** Исследование роли некоторых физико-химических показателей качества растворов антибиотиков и местных анестетиков в реализации их местного действия при подкожном, внутримышечном и паранефральном введении / Автореф. дис. ... канд. мед. наук, Саранск, 2004. – 26 с.
3. **Kunz C.R.** Intrapleural injection of transforming growth factor- α antibody inhibits pleural fibrosis in empyema // Chest. 2004;126;1636-1644.

The experimental pharmacology

Development of the new highly effective and safe drugs is the primary aim of the modern pharmacology. For this purpose carrying out not only researches of specific pharmacological activity of various compounds, but also toxicological researches, mutagenics and teratogenics researches, is necessary. The important problem of pharmacology is also creation of adequate experimental models for studying of pharmacological activity of new compounds. In short messages are presented results of experimental studying of pharmacological effects new immunomodulators, hepatoprotectors, drugs for the treatment of infringement of brain blood circulation, an arterial hypertension, gastroenteric pathologies and others. Some researches are devoted working out of models of pathological conditions for carrying out of pharmacological researches.

Keywords: experimental pharmacology, pharmacological models, toxicity.

