ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅՈՒՆ

ՄԵՀՐԱԲՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏԻ ՏԵՂԵԿԱԳԻՐ

ВЕСТНИК
МЕДИЦИНСКОГО ИНСТИТУТА ИМ. МЕГРАБЯНА

BULLETIN
OF THE MEDICAL INSTITUTE AFTER MEHRABYAN

ԳԻՏԱԿԱՆ ՏԵՂԵԿԱԳԻՐ
НАУЧНЫЙ БЮЛЛЕТЕНЬ

ՀԱՏՈՐ 2 ТОМ

ՄԵՀՐԱԲՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԵՐԵՎԱՆ 2006 ЕРЕВАН

Выходит два раза в год
на русском, армянском и английском языках

Բ.Տ. ՂԱՐԻԲՋԱՆՅԱՆ գլխավոր խմբագիր, Հայաստան, Երևան
Լ.Գ. ՄԵՀՐԱԲՅԱՆ գլխավոր խմբագրի տեղակալ, Հայաստան, Երևան
Ա. ԿԼԻՍՍԱՐՈՎԱ գլխավոր խմբագրի տեղակալ, Բուլղարիա, Վառնա

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒՐԴ

ՂԱՐԻԲՋԱՆՅԱՆ Բ.Տ. (ԲԳԴ, պրոֆեսոր, Երևան), ՇՈՒՔՈՒՐՅԱՆ Ա. Կ. (ԲԳԴ, պրոֆեսոր, Երևան), ԱՊՐԻԿՅԱՆ Ս. Վ. (ԿԳԴ, պրոֆեսոր, Երևան), ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ Է. Ա. (ՔԳԴ, պրոֆեսոր, Երևան), ՄՆԱՑԱԿԱՆՅԱՆ Վ. Հ. (ՔԳԴ, պրոֆեսոր, Երևան), ՂԱԶԱՐՅԱՆ Ս. Հ. (ՔԳԹ, դոցենտ, պատասխանատու խմբագիր, Երևան),

ГАРИБДЖАНЯН Б. Т. — главный редактор, Армения, Ереван
МЕГРАБЯН Л. Г. — заместитель главного редактора, Армения, Ереван
КЛИССАРОВА А. — заместитель главного редактора, Болгария, Варна

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

ГАРИБДЖАНЯН Б. Т.(ДМН, профессор, Ереван), ШУКУРЯН А. К. (ДМН, профессор, Ереван), АПРИКЯН С.В. (ДБН, профессор, Ереван), МАРКАРЯН Э. А.(ДХН, профессор, Ереван), МНАЦАКАНЯН В. А. (ДХН,профессор,Ереван), КАЗАРЯН С. А. (КХН,доцент,ответственный редактор,Ереван).

GHARIBJANYAN B.T. — Editor — in — chief, Armenia , Yerevan
MEHRABYAN L. G. — Deputy Editor, Armenia, Yerevan
KLISSAROVA A. — Deputy Editor, Bulgaria, Varna

EDITORIAL COUNCIL

GHARBJANYAN B.T. (DMS, Professor, Yerevan), SHUKURYAN A.K, (DMS, Professor, Yerevan), APRIKYAN S.V. (DBS, Professor, Yerevan), MARGARYAN E.A. (DChS, Professor, Yerevan), MNATSAKANYAN V.H. (DChS, Professor, Yerevan), GHAZARYAN S.H. (PhD, Docent, Executive Editor, Yerevan).

ISSN 1829-040X

PROF. PARASKEV STOYANOV, MD – FIRST YEARS OF TEACHING ACTIVITY

Dimitar Stavrev[1], Iskra Kapincheva[2]

[1]Department of Anatomy, Histology and Embryology Prof. Paraskev Stoyanov Medical University of Varna, Bulgaria
[2]Museum of history of medicine Varna, Bulgaria

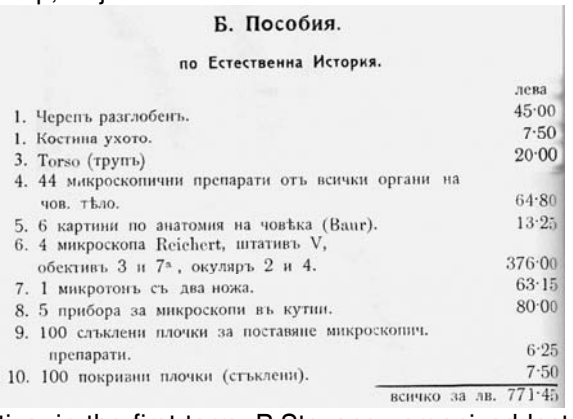
On the 10th April 1918 was established Medical faculty of Sofia University. The beginning period was connected above all with creation and development of scientific-teaching staff. The Academic council appointed at first to from the candidates for teaching - on the 20-th of Maj 1918 Wasil Mollov as a proffessor in internal diseases and on the 10-th of June 1918 Paraskev Stojanov as a professor in surgical propaedeutics with operative medicine (Decree 31 from the 26-th of July 1918). Prof.Waigner, who had been confirmed from Academic council as a professor in Anatomy later refused the position and Prof.Stoyanov accepted in emergency teaching of this discipline.Something more, he organized teaching base and preparation of teaching appliances. Without this voluntory obligation it would not be possible opening of Medical Faculty normally and in time.

This early acknowledgement qualification of the future doyen of surgery in Bulgaria is not just a chance. His teaching activity began years before in the favourite for all of us Varna city. P.Stoyanov arrived in Varna in 1905 and was appointed a managing physician and surgeon in the First State Hospital. Later he left and began as a teacher-physician in Varna's Male Secondary school on the 16-th of January 1910. He had the same angagement in I-st and II-d Primery schools in the city. He took care for 1094 students (745 from Primery schools). Dr. Paraskev Stoyanov participate the role of school physician as at the same time he began a teaching practice.

In his healing and preventing activity P.Stoyanov did sanitary inspection in school, estimating hygienic status of school buildings and equipment. In the beginning besides his clinical work, he did anthropometrical measurements of the students. Using his rich clinical experiencehe gave advices to improve school environment and student's regime. He offered to School chairmen to open gymnasium'games hall, to install central heating, fans for all rooms and to increase the area and number of the windows for improving natural illumination. He took these models for healthy organization of school environment from Scandinavian countries - Sweden, Norway and Finland.

In his teaching activity, besides hygienic-medicine education of students P.Stoyanov was angaged in taching antropology at first as a part (4 topics) of teaching natural history. During the next year 1910-1911 he put anthropology in the school curriculum. In that time curriculum, the discipline included basically knowledges about human anatomy and physiology. It had been learned in VI-th class of secondary school, 4 hours per week. As a teaching appliance he used Human Anatomy Physiology and Hygiene (*Bonev MD - Sofia 1909, P.Glushkov, edition 3*).

P.Stoyanov supplied the anatomy study with models but he was not satisfied because they were artificial, made from plaster and pasteboard. For complete visualisation of the teaching material, he used animal organs, taken from the butcher's shop. He brought also 50 microscope species of human organs and demonstrated them on 4 microscopes "Reichert" (Fig.2). He planned money and bought for the need of teaching human corp, disjointed cranium and ear bones.



Б. Пособия.

по Естественна Исторія.

	лева
1. Черепъ разглобенъ.	45·00
1. Костина ухото.	7·50
3. Torso (трупъ)	20·00
4. 44 микроскопични препарати отъ всички органи на чов. тѣло.	64·80
5. 6 картини по анатомия на човѣка (Baur).	13·25
6. 4 микроскопа Reichert, штативъ V, обективъ 3 и 7a, окуляръ 2 и 4.	376·00
7. 1 микротонъ съ два ножа.	63·15
8. 5 прибора за микроскопи въ кутии.	80·00
9. 100 слъкнени плочки за поставяне микроскопич. препарати.	6·25
10. 100 покрияни плочки (стъкнени).	7·50
всичко за лв.	771·45

In his own initiative, in the first term, P.Stoyanov organized lectures on the sexual topic and about sexual activity of students fromV-th, VI-th and VII-th classes in High school. He planned and systematically read lectures to students, teachers and even perents. He was fond of the idea for healhty wey of life, close to the nature and organized and took part in tours and excursions to well known natural and historical places in the country - V.Tarnovo, Gabrovo, Batak, Shipka, Mussala etc.

In Varna city P.Stoyanov put the beginning of his teaching activity, which lead later to the creation of his own scientific schola. During his teaching in Varna's schools he developed skills in communication with young people and improved methods of presenting teaching materal.

Sources:

1. Апостолов М. Огнища на българската медицина „АРСО" – София 1995
2. Бойчев Б., С. Израел Параскев СТОЯНОВ Медицина и Физкултура София 1971
3. ГОДИШНИКЪ на Варненската Държавна Мѫжка Гимназия „Фердинандъ I" за учебната 1909-1910 година. „Зора" – Варна 1910
4. ГОДИШНИКЪ на Варненската Държавна Мѫжка Гимназия „Фердинандъ I" за учебната 1910-1911 година. „Зора" – Варна 1911
5. ГОДИШНИКЪ на Варненската Държавна Мѫжка Гимназия „Фердинандъ I" за учебната 1911-1912 година. „Зора" – Варна 1912
6. Personall archive of proff. P.Stoyanov Museum of history of medicine Varna
7. Service list of P.Stoyanov MD 1910 filled autographically
8. Service list of P.Stoyanov MD 1914 filled autographically
9. Стоянов П. МОРЕЛЪЧЕНИЕ *лечебни свойства на морето методи на лечението* Съ портретъ и биографски бележки за автора отъ Ст. Кутинчевъ „Акация" – София 1926

TOTAL PHENOLIC CONTENT AND IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FRUIT JUICES FROM *ARONIA MELANOCARPA, PUNICA GRANATUM* AND *RUBUS CAESIUS*

Stefka Valcheva-Kuzmanova[1], Diana Ivanova[2], Anna Belcheva[2]

[1]Department of Medico-biological Sciences, [2]Department of Preclinical and Clinical Pharmacology and Biochemistry, Medical University – Varna, Bulgaria

Correspondence to: Stefka Valcheva-Kuzmanova, Department of Medico-biological Sciences, Medical University, 55 Marin Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria; Tel.: +359 52 606 786 – 246; Fax.: +359 52 650019; E-mail: stefkavk@yahoo.com

Key words: *fruit juices, Aronia melanocarpa, Punica granatum, Rubus caesius, total phenolic content, total antioxidant activity*

Abstract

The antioxidant properties of fruit juices from *Aronia melanocarpa* (chokeberry), *Punica granatum* (pomegranate), and *Rubus caesius* (blackberry) were analyzed in relation to their contents of total phenolics. Total phenolic content was assayed according to the Folin-Ciocalteau method and expressed as gallic acid equivalents (GAE). Total antioxidant activity was measured by ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] cation radical decolorization assay and expressed as Trolox equivalents (TE). The total phenolic contents of the fruit juices from *Aronia melanocarpa, Punica granatum*, and *Rubus caesius* were respectively 6,73 ± 0.1, 4.61 ± 0.2 and 3.5 ± 0.1 g GAE/l and the corresponding total antioxidant activities of the juices were 58.09 ± 0.8, 51.16 ± 0.7 and 22.63 ± 0.5 mM TE. The high degree of positive correlation (r = 0.85) between the total antioxidant activity and total phenolic content indicated the significance of phenolic substances for the antioxidant properties of the fruit juices.

Introduction

In recent times, focus on plant research has increased all over the world and a large body of evidence has collected to show the immense potential of medicinal plants. A considerable body of literature supports the role of oxidative stress in the pathogenesis of many human diseases and the contribution of dietary phenolics to their prevention (Brenneisen et al., 2005; Scalbert et al., 2005; Yuen et al., 2005). Epidemiological studies demonstrated that populations consuming polyphenolic-rich diets (from fruits, vegetables and wine) have a reduced risk of coronary heart disease (Keli et al., 1996) and cancer (Ding et al., 2006). Consumption of controlled diets high in fruits and berries significantly increased the antioxidant capacity of plasma (Cao et al., 1998). The antioxidant activity of phenolics is mainly due to their redox properties, which allow them to act as reducing agents, hydrogen donators, singlet oxygen quenchers and metal chelators (Rice-Evans et al., 1995).

Aronia melanocarpa (chokeberry) is a woody shrub of the Rosaceae family, genus Aronia, native to the eastern North America, popularized and commonly planted in Eastern Europe and Russia. *Punica granatum* (pomegranate) tree, which is said to have flourished in the garden of Edem, has been used extensively in the folk medicine of many countries. *Rubus caesius* (blackberry) is a widespread and well known shrub

of the Rosaceae family, genus Rubus. Chokeberry, blackberry as well as other berries, and pomegranate fruits are an important source of dietary phenolics.

The aim of the present study was to determine the correlation between the total phenolic content and the total antioxidant activity of fruit juices from *Aronia melanocarpa*, *Punica granatum*, and *Rubus caesius*.

Materials and methods

Preparation of fruit juices

Fruits from *Rubus caesius* were collected in August 2005. Fruits from *Aronia melanocarpa* and *Punica granatum* were collected in September 2005. The fruits were handpicked, crushed and squeezed. The juices were filtered, pasteurized and stored at 0 °C before the experiment.

Total phenolic content

The total phenolic content of the fruit juices was determined according to the spectrophotometric method based on the ability of the phenolic substances to form a blue molybdenum-tungstic complex with the reagent of Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965). Absorbance was measured at 760 nm. Gallic acid was used as a standard. The total phenolic content of the juices was expressed as g gallic acid equivalents /l (g GAE/l).

Total antioxidant activity

The total antioxidant activity was measured by the ABTS radical cation decolorization assay (Re et al., 1999). The blue/green ABTS radical cation ($ABTS^{\cdot+}$) was produced through the reaction of potassium persulfate and ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]. Addition of antioxidants to the pre-formed radical reduced it to ABTS. The extent of decolorization as percentage inhibition of $ABTS^{\cdot+}$ was calculated relative to the reactivity of Trolox (registered trade-mark of Hoffman-LaRoche, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethychroman-2-carboxylic acid) as a standard. The absorption was monitored at 734 nm. The antioxidant activity was expressed as mM Trolox equivalents (mM TE).

Statistical analysis

Results are presented as mean ± SEM from 4 independent measurements. Correlation analysis was performed to calculate the correlation coefficient (r) as a measure of the degree of association between the total phenolic content and the total antioxidant activity of the juices. GraphPad Prism statistical software was used for the statistical analysis.

Results and discussion The concentration of total phenolics in the fruit juices from *Rubus caesius*, *Punica granatum,* and *Aronia melanocarpa* were respectively 3.5 ± 0.1, 4.61 ± 0.2, and 6.73 ± 0.1 g GAE/l (Fig.1).

Fig. 1.

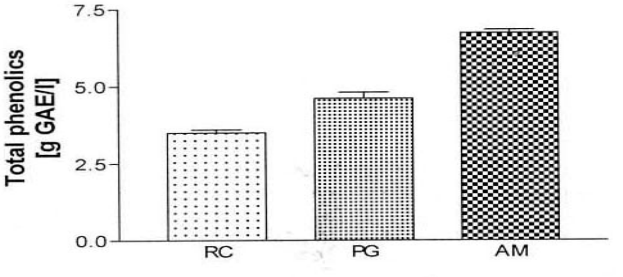


Fig. 1. Total phenolic contents of fruit juices from Rubus caesius (RC), Punica granatum (PG), and Aronia melanocarpa (AM) expressed as gallic acid equivalents (GAE).

The total antioxidant activities of the juices from *Rubus caesius, Punica granatum*, and *Aronia melanocarpa* were respectively 22.63 ± 0.5, 51.16 ± 0.7, and 58.09 ± 0.8 mM TE (Fig. 2).

Fig. 2.

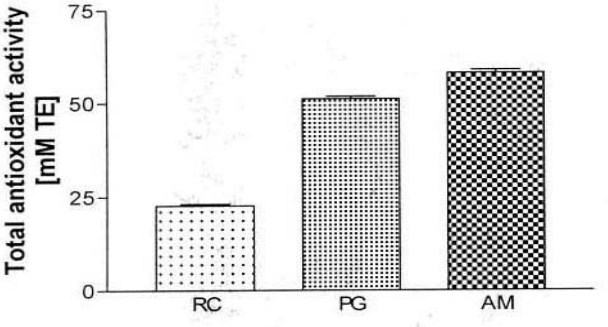


Fig. 2. Total antioxidant activities of fruit juices from Rubus caesius (RC), Punica granatum (PG), and Aronia melanocarpa (AM) as Trolox equivalents (TE).

There was a high degree of positive correlation (r = 0.85) between the total antioxidant activity and total phenolic content of the three fruit juices (Fig 3).

Fig. 3.

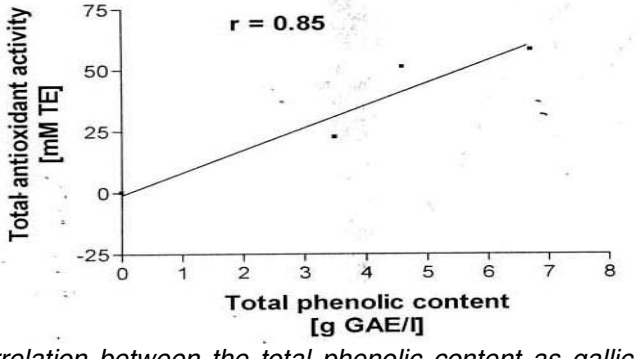


Fig. 3. Correlation between the total phenolic content as gallic acid equivalents (GAE) and the total antioxidant activity as Trolox equivalents (TE) of fruit juices from Rubus caesius, Punica granatum, and Aronia melanocarpa.

The total phenolic content of the fruit juices determined in our experiment was very high and especially that of *Aronia melanocarpa* fruit juice. Other investigators' data also show that chokeberry is among the berries with remarkable high total phenolic content (Kahkonnen et al., 1999). The amount of total phenolics in chokeberry fruits is about three to four times higher than that in cherry, strawberry,

raspberry, red grape and red currant (Bermúdes-Sato and Thomás-Barberán, 2004). The phenolic substances in *Aronia melanocarpa* fruits are tannins named procyanidins (Oszmianski and Wojdylo, 2005), anthocyanins which are cyanidin glycosides (Oszmianski and Sapis, 1988), two phenolic acids: chlorogenic and neochlorogenic (Oszmianski and Wojdylo, 2005), and a mixture of five quercetin glycosides (Slimestad et al., 2004). Data in literature show that phenolics in pomegranate juice are anthocyanins (delphinidin, cyanidin, and pelargonidin), ellagic acid derivatives, and hydrolyzable tannins (Gil et al., 2000; Noda et al., 2002; Perez-Vicente et al., 2002). The phenolics in blackberry fruits are anthocyanins and other flavonoids (Cho et al., 2004).

Our experiment demonstrated pronounced antioxidant activities of the fruit juices. According to Fiore et al. (2005) the total antioxidant activity, measured by the ABTS radical cation decolorization assay, is positively related to the content of anthocyanins and other phenolics. The antioxidant capacity of phenolic compounds is essentially due to the ease with which a hydrogen atom from an aromatic hydroxyl (OH) group can be donated to a free radical. The contribution of individual phenolics to the antioxidant capacity is generally dependent on their structure. The three examined fruit juices are very rich in anthocyanins (Noda et al., 2002; Cho et al., 2004; Oszmianski and Wojdylo, 2005). Highly effective radical scavenging structures in anthocyanins are the 3',4'-dihydroxy substituents in the B ring and the conjugation between the A and B rings (Zheng and Wang, 2003).

Our study demonstrated a high degree of correlation between the total antioxidant activity and the total phenolic content of the fruit juices. A similar correlation was found by other investigators for fruits and leaves from blackberry, raspberry, and strawberry (Wang and Lin, 2000; Cho et al., 2002). This correlation indicates the role of total phenolics for the antioxidant potential of the fruit juices.

Conclusion

Due to their high phenolic contents and high antioxidant activities the fruit juices from *Aronia melanocarpa, Punica granatum,* and *Rubus caesius* could be a valuable component of diets for the treatment and prophylaxis of oxidative stress-related diseases.

References

1. Bermúdes-Sato MJ, Thomás-Barberán FA. 2004. Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *Eur Food Res Technol* 219: 133-141.
2. Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. 1998. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 68: 1081-1087.
3. Cho MJ, Howard LR, Prior RL, Clark JR. 2004. Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J Sci Food Agric* 84: 1771-1782.
4. Ding M, Feng R, Wang SY, Bowman L, Lu Y, Oian Y, Castranaova V, Jiang BH, Shi X. 2006. Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *J Biol Chem* 281: 17359-17368.

5. Fiore A, La Fauci L, Cervellati R, Guerra MC, Speroni E, Costa S, Galvano G, De Lorenzo A, Bacchelli V, Fogliano V, Galvano F. 2005. Antioxidant activity of pasteurized and sterilized commercial red orange juices. *Mol Nutr Food Res* 49: 1129-1135.
6. Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem* 48: 4581-4589.
7. Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954-3962.
8. Keli SO, Hertog MG, Feskins EJ, Kromhout D. 1996. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke: the Zutphen study. *Arch Intern Med* 156: 637-642.
9. Noda Y, Kaneyuki T, Mori A, Packer L. 2002. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. *J Agric Food Chem* 50: 166-171.
10. Oszmiański J, Sapis JC. 1988. Anthocyanins in fruits of Aronia melanocarpa (Chokeberry). *J Food Sci* 53: 1241-1242.
11. Oszmianski J, Wojdylo A. 2005. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 221: 809-813.
12. Perez-Vicente A, Gil-Izguierdo A, Garcia-Viguera C. 2002. In vitro gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins, and vitamin C. *J Agric Food Chem* 50: 2308-2312.
13. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* 26: 1231-1237.
14. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res* 22: 375-383.
15. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45: 287-306.
16. Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Emol Viticult* 16: 144-158.
17. Slimestad R, Torskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH. 2004. Flavonoids from black chokeberries, Aronia melanocarpa. *J Food Compos Anal* 18: 61-68.
18. Wang SY, Lin HS. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J Agric Food Chem* 48: 140-146.
19. Yuen B, Furrer L, Ballmer P. 2005. Antioxidant vitamin supplementation in the prevention of cardiovascular disease. *Ther Umsch* 62: 615-618.
20. Zheng W, Wang S. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem* 51: 502-509.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ЭРИТРОПОЭТИН И ПРОБИОТИКИ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ СИНЕРГИСТЫ В БИОТЕРАПИИ РАКА?

И. Пашалиева, Зл. Стоянов

Медицинский университет, Варна, Болгария
кафедра физиологии и патофизиологии

Ключевые слова: биотерапия рака, эритропоэтин, пробиотики

Резюме: Одним из наиболее перспективных направлений в лечении онкозаболеваний является биотерапия рака. Введение в организме рекомбинантного эритропоэтина и препаратов из живых микробных культур-пробиотиков, индуцируют синтез комплекса эндогенных цитокинов, которые стимулируют пролиферацию лимфоцитов и оказывает антипролиферативный эффект на опухолевые клетки.

Биотерапия рака

Биотерапия рака – новое направление в лечении злокачественных новообразований, получившее распространение в последние годы. Она является перспективным методом лечения злокачественных новообразований и по мнению ведущих специалистов онкологии в самое ближайшее время будет широко применяться в практике наряду с хирургическим, лучевым и химиотерапевтическим методами лечения. В настоящее время исследования проходят в трех направлениях:

1) прямое действие на опухолевую клетку;
2) подавление способности опухоли к метастазированию;
3) активация иммунной системы пациента, т.к. злокачественная опухоль обладает способностью подавлять иммунитет больного.

В современной онкологии уже широко применяют интерфероны, цитокины, моноклональные антитела, генно-инженерные вакцины. Особое внимание обращается на использование новых средств поддерживающей терапии и иммунореабилитации онкологических больных. Настоящий обзор фокусирован на литературных сведениях в онкологическом контексте о двух таких средствах – рекомбинантный человеческий эритропоэтин и пробиотики.

Эритропоэтин

В последние годы традиционное понимание, что эритропоэтин (Эпо) необходим только для эритропоэзы, изменилось, в результате новых исследований, демонстрирующих продукцию Эпо и его рецептора (Эпо-Р) из не гемопоэтических тканей и клеток паракринно-автокринического механизма. Было констатировано, что такими тканями являются нервная (ЦНС**),** эндотельные

клетки, большие опухоли, печень, матка и маточные трубы, сердце (6), лейкоциты (17) и др.

У взрослых млекопитающихся эритропоэза критически зависима от Эпо-гемопоэтического цитокина с плурипотентным эффектом. Эпо стимулирует рост, предотвращает апоптоз и повышает дифференциацию эритроидных прогениторных клеток. Генная экспрессия Эпо нарастает при уменьшенной тканевой оксигенации посредством комплексного механизма обратной связи. Ответ гипоксии контролируется и активируется ДНК связывающими белками, называемыми гипоксия индуцируемыми факторами (HIF) класса α: HIF-1α и HIF-2α (16).

Независимо оттого, что Эпо является специфическим гуморальным регулятором продукции эритроцитов, он проявляет и тканево-протективное действие в экспериментальной модели ишемических, травматических, токсических и воспалительных повреждениях. Он медиирует жизненные клеточные функции как клеточная протекция, восстановление ДНК и выживание клеток.

Что касается роли эритропоэтина в опухолевых процессах, рассуждения исследователей разнонаправленные. Интерес вызвал вопрос экспрессии Эпо и Эпо-Р в не гемопоэтических и в частности в опухолевых клетках, так как применение рекомбинативного человеческого эритропоэтина (рЭпо) у пациентов с карценомом может увеличить опухолевый рост посредством индукции клеточной полиферации или ангиогенеза. Исключительно интересны сведения Acs G. и соавторов, что автокриническая эритропоэтиновая сигнализация ингибирует гипокси-индуцированный апоптоз в человеческих карциномных клетках из молочной железы (2). Нарушенная перфузия и наступающая в результате этого гипоксия являются характерными для опухолевой гетерогенности, которая способствует рецидивам. Гипоксические опухолевые клетки связаны с резистентностью радиации и цитотоксических лекарств. Они имеют уменьшенный потенциал апоптоза, что может сыграть роль в развитии более агрессивного фенотипа. Авторы демонстрируют гипоксию, стимулированную экспрессией Эпо и Эпо-Р в человеческом карциноме молочной железы и карцином шейки матки, которая показывает роль автокринической эритропоэтиновой сигнализации в гипоксической адаптации карциномов.

Данные, которые поддерживают этот рост, однако, в последнее время подвергают ревизии – было установлено, что Эпо имеет ангиогенезисный эффект на васкулярные эндотельные клетки in vitro, однако нет сведений, что такой эффект наступает in vivo и повышает опухолевый рост. Некоторые доклинические исследования даже показали благоприятный эффект Эпо для замедления опухолевого роста.

Ferrario и соавторы обсуждают применение рЭпо у больных с карциномом (7). Пациенты с обусловленной карциномом анемией имеют неадекватный эритропоэтиновый ответ, который дополнительно ухудшается химиотерапией. Новые исследования показывают, что терапия Эпо может улучшить и когнитивные функции пациентов, подвергаемых химиотерапии.

Большое число исследований показывают, что лечение рЕпо (Epoietin α) анемии у больных карциномом сигнификантно повышает уровни гемоглобина, уменьшает необходимость гемонтансфузии и улучшает качество жизни, удаляя

усталость. Коррекция анемии может продлить выживаемость повышением опухолевой оксигенации, повышая таким образом чувствительность опухли на химиотерапию или радиацию.

Исследования показали, что в дополнение к гемопоэтическим эффектам, Эпо может иметь и антиопухолевую активность. Третирование машинных миеломных моделей Епо-α индуцирует полную опухолевую регрессию в 30-60 % мышей. Эффект Епо-α - Т – клеточно-медиировованный (11). Об антимиеломном эффекте Эпо сообщает и Mittelman и соавторы. Эта гипотеза основана на клинических наблюдениях и имеет поддержку исследованиям животных. В мышинных моделях рЭпо приводит к опухолевой регрессии в около 50 % животных, инокулированных миеломными клетками. Авторы предполагают, что механизм является новым имуно-меддированным феноменом, посредством активации на CD8+Т клеток (14).

Новые исследования Lissoni (10) патогенезиса неоплазмы человека демонстрируют, что после применения Епо-α у больных с продвинутыми солидными опухолями, уровни серума роста гормонов (GH) и соматомедина-С (IGF-1) сигнификантно уменьшаются. Эти исследования показали, что Эпо может ингибировать секрецию GH гипофизы и IGF-1 продукцию. Авторы рассматривают эти взаимодействия как пример гемато – эндокринического обратно – связевого механизма. Демонстрированный ингибиторный эффект Эпо на IGF-1 секреции, приводит к мысли о возможном использовании Эпо в онкологической практике не только как средство третирования карцином – связанной анемии, но и для подавления опухолевого роста посредством блокировании продукцию IGF-1, который является доказанным фактором роста для некоторых гистотипов опухоли.

Интересны эффекты рЭпо на функции полиморфноядерных клеток (ПМН). Они, вероятно, являются непосредственными и упрощенными цитокинами. В поддержку непосредственного механизма стимулирования являются сведения Sela и соавт. (17). Они констатировали экспрессию мРНК и на рецепторный протеин для Эпо на мембрану ПМН, которые регулируются уровнем гормона в серуме. Эпо стимулирует производство цитокинов в серуме (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6, TGF-β1, TNF-α) (4). Известно, что Эпо индуцирует ИЛ-1 , а он со своей стороны стимулирует миелопериксидазное освобождение ПМН, которое приводит к улучшенной фагоцитарной активности.

Экспериментальные и клиничские сведения дают основание считать, что Эпо можно использовать для дополнительной иммунной модуляции разных злокачественных заболеваний, в дополнение текущего режима химиотерапии. Будущие исследования могли бы определить роль Эпо в лечении миеломы и некоторых карциномов, а также и присутствие Эпо и Эпо-Р на некоторых опухолевых клетках.

Пробиотики

Пробиотики – это препараты из живых микробных культур. Их применяют в превенции и лечении различных заболеваний – инфекция Helicobacter pylori, воспалительные заболевания кишечника, синдрома раздражаемой толстой кишки, некротизирующего энтероколита у недоношенных новорожденных, ревматоидного артрита, у пациентов с костномозговыми трансплантациями и неопластическими заболеваниями (5). Пробиотики упражняют свой эффект

несколькими способами: предотвращение колонизации, клеточной адгезии и инвазии патогенных микроорганизмов, имеют непосредственную антимикробную активность и модулируют иммунный ответ.

Для протективной активности пробиотика Acilact в экспериментальных условиях сообщает Budagov и соавторы (3). Они изучают действие пробиотика при ионизирующей радиации и антираковой химиотерапии. Констатировали повышенную выживаемость мышей, ингибирование колонизации Грам (-) микроорганизмами, нормализация гематологических параметров и клеток костного мозга, а также и повышение концентрации геморегулирующих цитокинов ИЛ-3 и ИЛ-6 в крови.

Пероральное введение другого рекомбинантного пробиотика – субалин, тоже индуцирует в организме синтез комплекса эндогенных цитокинов, которые стимулируют пролиферацию различных популяций лимфоцитов и оказывает значительный антипролиферативный эффект на опухолевые клетки различных линий, независимо от сроков введения и наличия или отсутствия процесса опухолевого роста (1). Ishikava и сотр. сообщают, что Lactobacillus casei предотвращает атипию при колоректальных опухолях (8).

О антиканцерогенной и детоксикационной роли пробиотиков сообщают и другие авторы. McGarr (12), Saikali (15) установили непосредственный антипролиферативный эффект на опухолевые клетки in vitro и на иммунные клетки in vivo (9). Mego и сотр. обсуждают применение пробиотического штамма М-74 как перспективный метод элиминирования патогенных бактерий при воспалении кишечника и карциномов толстой кишки (13). Tanasienko и сотр. установили, что комбинирование антиопухолевой вакцины с прибиотиками имеет синергический эффект и значительно повышает эффективность вакцины у мышей (18).

Заключение

Комплексный подход при лечении онкологических заболеваний требует сочетания всех современных возможностей медицины. Традиционно Эпо и пробиотики не обсуждаются вместе в биотерапии опухоли. На основании рассмотренных выше эффектов этих агентов, однако, мы предлагаем наше понимание, хотя и спекулятивное к настоящему моменту, об объединении возможностей, предлагаемых биологической и фармакологической активности Эпо и пробиотиков в лечении злокачественных заболеваний. Как Эпо, так и прибиотики нормализируют клеточный состав костного мозга и гематологические параметры крови. Как Эпо, так и пробиотики проявляют антиопухолевую активность в животной модели in vitro и in vivo, а также и у людей при проведении клинических исследований. Их действие основано на имуномодуляции, вероятно стимулированием производства эндогенных цитокинов (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TGF-β1, TNF-α). Цитокины индуцируют пролиферацию различных популяций лимфоцитов и оказывают значительный антипролиферативный эффект на опухолевые клетки. Эпо мог бы участвовать в терапии различных видов карциномов не только как средство преодоления анемии, связанной с онкологическими заболеваниями и химиотерапией, но и своей антиопухолевой, тканевой протективной и иммуномодуляторной активност. Пробиотики могли бы дополнить лечение и сделать его максимально близким к физиологии организма человека. Таким образом, применение Эпо и

пробиотиков относится к третьему направлению лечения рака, которые было выделено в начале, а именно – активация иммунной системы пациента.

Литература

1. Крамаренко И. С., Н. В. Литвяков. Влияние рекомбинантного пробиотика субалина на пролиферацию лимфоцитов и опухолевых клеток. http://conference01.chat.ru/thesis.htm
2. Acs G, M. Chen, X. Xu, P. Acs, A. Verma, CY Koch. Autocrine erythropoietin signalling inhibits hypoxia-induced apoptosis in human breast carcinoma cells. Cancer Lett. 2004 Oct 28; 214(2):243-51.
3. Budagov RS, Ulianova LP, Pospelova VV. The protective activity of a new variant of the probiotic Acilact in exposure to ionizing radiation and anticancer chemotherapy under experimental conditions. Vestn Ross Akad Med Nauk. 2006;(2):3-5.
4. Gafter M. Immunological effects of Erythropoietin. XII-th Int. Congress of Nephrology, Jerusalem, Israel, 1993, Abstract, 299.
5. Doron S. Gorbach SL. Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. Expert Rev Anti Infect Ther. 2006 Apr;4(2):261-75.
6. Farrell F, A. Lee. The erythropoietin receptor and expression in tumor cells and other tissues. Oncologist. 2004;9 Suppl 5:18-30.
7. Ferrario E, L. Ferrari, P. Bidoli, D. De Candis, M. Del Vecchio, S. De Dosso, R. Buzzoni, E. Bajetta. Treatment of cancer-releated anemia with epoetin alfa; a rewiew. Cancer Treat Rev. 2004 Oct; 30(6):563-7.
8. Ishikawa H, I. Akedo, T. Otani, T. Suzuki, T. Nakamura, I. Takeyama, S. Ishiguro, E. Miyaoka, T. Sobue, T. Kakizoe. Randomized trial of dietary fiber and Lactobacillus casei administration for prevention of colorectal tumors. Int J Cancer 2005 Sep 20;116(5):762-7.
9. Lee JW, JG Shin, EH Kim, HE Kang, IB Yim, IY Kim, HG Ioo, HI Woo. Immunomodulatory and antitumor effects in vivo by the cytoplasmic fraction of Lactobacillus casei and Bifidobacterium longum. J Vet Sci 2004 Mar;5(1):41-8.
10. Lissoni P, M. Perego, E. Veronese, G. Fumagalli, F. Brivio, M. Colciago, G. Gardani. Endocrine effects of erythropoietin in cancer patients. Hematology. 2004;9(5-6):363-367.
11. Ludwig H. rHuEpo and treatment outcomes: the preclinical experience. Oncologist. 2004; 9 Suppl 5:48-54.
12. McGarr SE, JM Ridlon, PB Hylemon. Diet, anaerobic bacterial metabolism and colon cancer: a review of the literature. J Clin Gastroenterol. 2005, Feb; 39(2):98-109.
13. Mego M, J. Majek, R. Koncekova, L. Ebringer, S. Ciernikova, P. Ranko, M. Rovac, J. Trupl, P. Slezak, V. Zajac. Intramucosal bacteria in colon cancer and their elimination by probiotic strain Enterococcus faecium M-74 with organic selenium. Folia Microbiol(Praha) 2005; 50(5):443-7.
14. Mittelman M, A. Zeidman, P. Kanter, O. Katz, H. Oster, D. Rund, D. Neumann. Erythropoietin has an anti-myeloma effect-a hypothesis based on a

clinical observation supported by animal studies. Eur J Haematol. 2004 Mar; 72(3):155-65.
15. Saikali J, C. Picard, M. Freitas, P. Holt. Fermented milks, probiotic cultures and colon cancer. Nutr Cancer. 2004; 49(1):14-24.
16. Scortegagna M, K. Ding, Q. Zhang, Y. Oktay, MJ. Bennett, JM Shelton, Ja Garcia. HIF-2 alfa regulates murine hematopoietic development in an erythropoietin-dependent manner. Blood. 2005 Apr 15; 105(8):3133-40.
17. Sela S, R. Shurtz-Swirski, R. Sharon, J. Manaster, J. Chezar, G. Shkolnik, G. Shapiro, SM Shasha, S. Merchav, B. Kristal. Nephron. 2001, 88,3,205-210.
18. Tanasienko OA, NL Cherneshenko, GP Titova, MG Potebuya, MM Gavrilenko, SS Nagorna, NK Kovalenko. Elevation of the efficacy of antitumor vaccine prepared on the base of lectines from B. subtilis B-7025 upon its combined application with probiotics in vitro. Exp Oncol. 2005 Dec; 27(4):336-8.

УДК547.84.107+615,31

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ АДРЕНО- И СИМПАТОЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ N-ЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОАМИДОВ-ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗОДИОКСАНА.

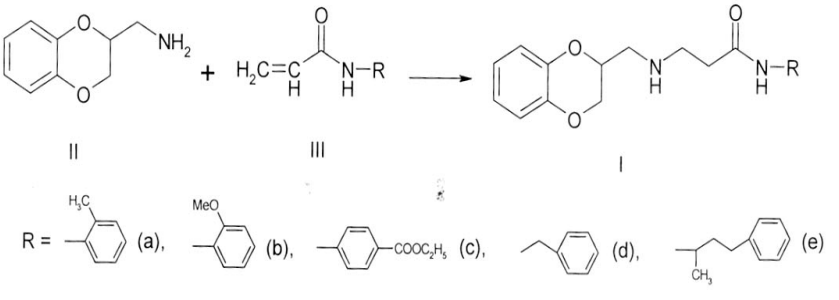
С.О.Вартанян[1], А.С.Авакян[1], Э.А.Маркарян[1,2], А.Б.Саргсян[1] А.С.Цатинян[1], Э.А.Ширинян[1]

1.Институт тонкой органической химии НАН РА. Ереван, пр.Азатутян 26.
2.Медицинский институт им. Меграбяна.

Ключевые слова – 1,4-бензодиоксан, амин, амидоамины, акриловая кислота
Key words – 1,4-benzodioxane,amine, amidoamines, acrylic acid

Ранее нами был синтезирован большой ряд N- замещенных производных 1,4-бензодиоксан-2-метиламина, содержащих арилалкильные, арилоксиалканольные, аминоалкильные и другие функциональные фрагменты [1-3].

В настоящей работе представлен синтез и результаты фармакологических исследований новых производных 1,4-бензодиоксана с амидоарильными радикалами. Целевые аминоамиды I синтезированы взаимодействием 1,4-бензодиоксан-2-метиламина (II) с N-замещенными амидами акриловой кислоты (III), полученными действием хлорангидрида акриловой кислоты на разнообразные арилалкиламины в присутствии триэтиламина. Реакция проведена при 0°С, чтобы исключить возможное присоединение амина по двойной связи.



Показано, что реакция присоединения 1,4-бензодиоксан-2-метиламина по двойной связи акриламидов идет с хорошими выходами в присутствии каталитических количеств концентрированной соляной кислоты при 50-60 °С.

В ИК-спектрах ненасыщенных амидов (II) присутствует полоса поглощения амидного карбонила (1630 $см^{-1}$) и С=С двойной связи (1660 $см^{-1}$), которая отсутствует в спектрах конечных амидоаминов.

Фармакологическому исследованию подвергнуты гидрохлориды амидоаминов I.

Экспериментальная химическая часть

1,4-Бензодиоксан-2-метиламин получен по [4] с 70% выходом.

N- Замещенные амиды акриловой кислоты (III)

К бензольному раствору 0,9 г (0,01моля) хлорангидрида акриловой кислоты при 0-5°С медленно прибавляют 0,01 моля соответствующего амина и 1г (0,01 моля) триэтиламина в абс. бензоле. На следующий день реакционную смесь промывают разбавленным раствором соляной кислоты, водой, разбавленным раствором едкого натра и снова водой. Бензольный раствор сушат, отгоняют растворитель, остаток кристаллизуют и перекристаллизовывают из толуола.(Табл.)

Гидрохлориды аминоамидов

К смеси 0,01 моля 1,4-бензодиоксан-2-метиламина (II) и 0,01 моля амида (III) прибавляют 1-2 капли концентрированной соляной кислоты и выдерживают при 50-60 °С 5-6 часов. Прибавляют 30 мл толуола и 10 мл разбавленного раствора соляной кислоты, отфильтровывают образовавшиеся кристаллы гидрохлоридов, промывают 3 раза по 30 мл толуола и водой. Сушат и перекристаллизовывают из этанола(Табл.).

Экспериментальная биологическая часть.

О блокирующем действии соединений на периферические адренергические нейроны (о симпатолитических свойствах) судили по сравнению реакции (сильное продольное сокращение) семявыносящего протока крыс на трансмуральное электрическое раздражение длительностью 0,1м/сек до и после воздействия исследуемых соединений в дозе 0,05 мкмоль/мл. Для выявления α-адренолитических свойств регистрировались амплитуды сокращений семяпротока, вызванные уже норадреналином ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл), в контрольных опытах и при применении исследуемых препаратов. Для суждения о длительности действия препаратов регистрация проводилась на 10-ой мин. (кратковременное действие) и на 60-ой минуте (длительное стабильноедействие) после воздействия соединений на изолированный орган, инкубируемый в течение эксперимента в проточном растворе Кребса [5].

Выявлено, что наиболее сильной (более 90%) и стойкой (длительной) симпато- и адренолитической активностью обладает соединение Ie. Сравнительно кратковременную адренолитическую активность проявило соединение Id. Симпатоблокирующая активность соединений Ia и Ib составляет 55-60%. Симпатоблокирующая активность соединения Ic снижалась при последующей 60-ти минутной инкубации органа

ХАРАКТЕРИСТИКА АМИДОВ И АМИДОАМИНОВ

* - Для соединений IIIa-e система бензол-ацетон 3:1, для Ia-e - бензол-ацетон (3:1), пары аммиака.

...№ соединения	Выход, %	Т.пл., °С	R_f *	Данные ИК-спектров($см^{-1}$) и ПМР-спектров (ДМСО, δ м.д.)
IIIa	61,5	119 – 120	0,60	1630(O=C-NH), 1650(C=C), 3340(NH)
IIIb	60,7	67-69	0,58	1635(O=C-NH), 1660(C=C), 3320(NH)
IIIc	63,5	124 – 125	0,50	1640(O=C-NH), 1665(C=C), 3330(NH), 1735(O=C-OC_2H_5)
IIId	64,0	60-61	0,54	1630(O=C-NH), 1650(C=C), 3340(NH)
IIIe	61,8	50-52	0,62	1645(O=C-NH), 1670(C=C), 3320(NH)
Ia	64,0	182-184	0,35*	2,25 (3H,CH_3); 3,0(2H, CH_2-N); 3,2-34(4H,-CH_2-CH_2), 4,1, 4,4, 4,8 O-CH-CH_2-O), 6,8(4H, аром.), 7,1, 7,5 (4H, аром.), 9,5 (1H, NH C=O), 9,6, 10,2 (2H, NH_2Cl).
Ib	63,2	135-136	0,32*	3,05(2H,CH_2-C=O); 3,3(4H,-CH_2-N-CH_2); 3,9(3H, -CH_3O), 4,1, 4,(4,75(3H,-O-CH-CH_2-O), 6,8-7,0(7H, аром.), 8,05(1H, аром.), 9,2(1H NH-C=O), 9,6, 10,2 (2H, NH_2).
Ic	60,5	197-200	0,28*	1,4(3H,CH_3); 3,0-3,4(6H, 3CH_2-); 4,1, 4,4, 4,8(3H, -O-CH-CH_2-O 4,3(2H, -OCH_2-), 6,8-6,9(4H, аром.), 7,75-7,9(4H, аром.), 9,(10,1(2H, NH_2), 10,6(1H, O=C- NH).
Id	45,6	207-209	0,37*	2,8-3,2(8H,4-CH_2-); 4,1, 4,4, 4,8(3H, -O-CH-CH_2-O), 6,8-7,0(9H аром.), 8,0(1H, O=C-NH), 9,6, 10,(2H, NH_2).
Ie	30,5	178-179	0,30*	1,1(3H,CH_3); 1,6-1,8(2H, CH_2-Ar.), 2,6-2,7(4H,2CH_2), 3,2(4H, 2CH_2 3,8(1H,-CH-) 4,1, 4,4, 4,75(3H,-O-CH_2-CH-O), 6,8 (4H, аром. 7,2(5H, аром.), 8,0(1H, O=C-NH), 9,6,10,2(2H, NH_2).

ЛИТЕРАТУРА

1. А.С.Авакян, С.О.Варданян, Э.А.Маркарян. ''Хим-фарм. ж.'' №8, 925- 939, 1988
2. С.О.Варданян, А.С.Авакян, А.Б.Саркисян, Э.А.Маркарян, С.А.Арутюнян, Э.А.Ширинян, А.Г.Хачатрян. ''Вестник МАНЭБ'', т.10, №6, с.198, 2005
3. С.О.Варданян, А.С.Авакян, Э.А.Маркарян, Т.Г.Гукасян, Э.А.Ширинян ''Хим. ж. Армении''. LV, №1,2, с.99-104, 2002.
4. Landi-Vittory R., Mariny-Bettolo G. ''Groat. Chem. Acta'', 1957, 29, p.363-367 /C.A. 53.16137d(1959)/
5. Авакян О.М. Симпато-адреналовая система. Изд-во ''Наука'',Л.,1977.

1,4-Բենզոդիօքսանի ածանցյալներ՝ N-տեղակալված ամինաամիդների սինթեզ և նրանց ադրենա- և սիմպատոլիթիկ հատկությունների ուսումնասիրությունը

Ս. Օ. Վարդանյան, Ա.Ս.Ավագյան, Է.Ա.Մարգարյան, Ա.Բ.Սարգսյան, Ա.Ս.Ծատինյան, Է.Ա.Շիրինյան,

1.ՀՀ ԳԱԱ Նուրբ օրգանական քիմիայի ինստիտուտ.
2.Մեհրաբյանի անվ. Բժշկական ինստիտուտ.

1,4-Բենզոդիօքսան-2-մեթիլամինի և ակրիլաթթվի N-տեղակալված ամիդների փոխազդեցությամբ սինթեզվել են համապատասխան ամինաամիդներ:Ցույց է տրված նրանց բարձր ադրենա- և սիմպատոլիտիկ ակտիվությունը:

Կատարված աշխատանքը ֆինանսավորված է ՄԳՏԿ-ի կողմից (շնորհ A-960)

SYNTHESIS AND ADRENO- AND SIMPATHOLITIC PROPERTIES OF THE N-SUBSTITUTED AMINOAMIDES-1,4-BENZODIOXANE DERIVATIVES.

Vardanjan S.O., Avakjan A.S., Margarjan E.A., Sargsyan A.B. Shirinjan E.A., Catinjan A.S.

1. Institute of Fine Organic Chemistry, Yerevan
2. Medical institute after Mehrabyan, Yerevan.

By interaction of 1,4-benzodioxan-2-methylamine and N-substituted amides of acrylic acid were produced corresponding aminoamides.
It has been demonstrated that all compounds have high adreno-and simpatholitic activity.

This work was supported by the ISTC A-960 grant.

СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ α,β-ДЕГИДРОАМИНОКИСЛОТ С ЦЕЛЬЮ ИЗЫСКАНИЯ ОПИОИДНЫХ АНТАГОНИСТОВ

В.О. Топузян

Институт тонкой органической химии НАН РА

Ключевые слова: α,β-дегидроаминокислоты, противоморфинная активность, опиоидные рецепторы.

Key words: α,β-dehydroamino acids, antimorphinic activity, opioid receptor

С прикладной точки зрения создание опиоидных антагонистов является важной задачей. Антагонисты морфина имеют непосредственное лечебное значение в случаях острого отравления наркотическими анальгетиками, а также являются потенциальным поддерживающим средством при лечении наркомании /1/.

В 1975 году впервые идентифицированы, выделены из мозга и химически охарактеризованы /2/ два пентапетида – Leu- (***1***) и Met-энкефалины (***2***), обладающие сродством к опиатным рецепторам. Эти пентапептиды имитируют многие биохимические эффекты наркотиков /3/.

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (***1***)

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (***2***)

В литературе имеется много работ, посвященных синтезу аналогов энкефалинов, проявляющих опиоидную активность /4/. Однако создание μ-специфических антагонистов на пептидной основе имеет короткую историю. Первая работа этого направления была опубликована в 1981г /5/ и посвящена синтезу тетрапептидных аналогов энкефалинов. Нахождение активных анальгетиков в ряду дипептидов /4/ дает основание предполагать, что этот ряд может стать основой для изыскания противоморфинных средств.

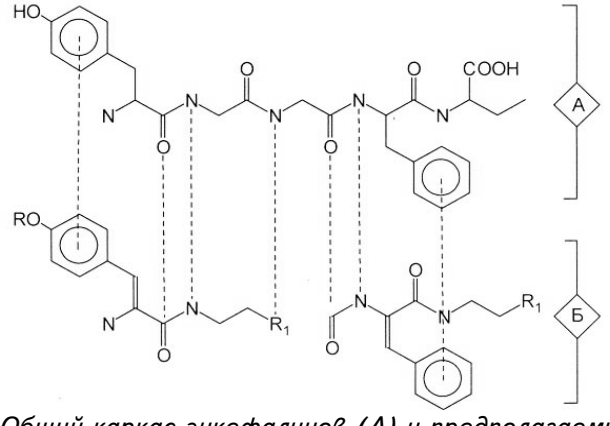
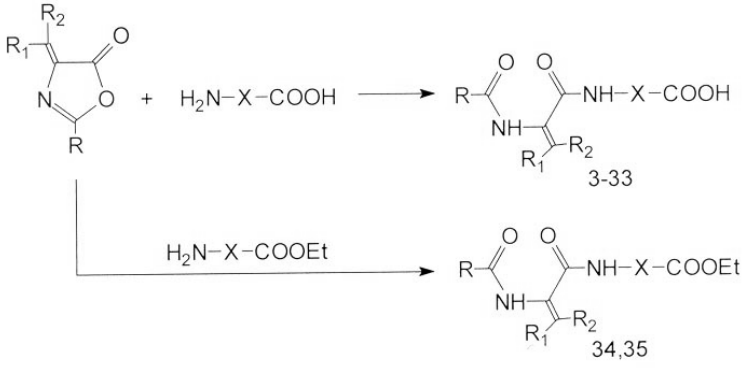


Рис1. Общий каркас энкефалинов (А) и предполагаемые структуры производных α,β-дегидроаминокислот (Б).

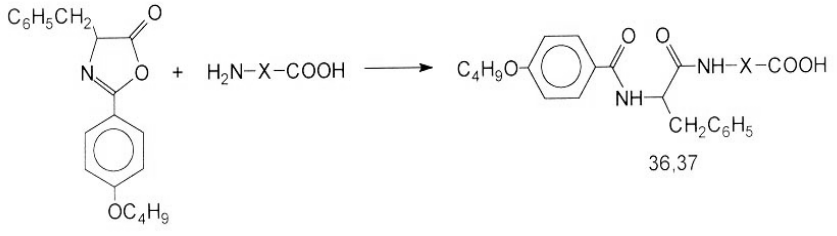
В связи с этим нами предпринят синтез анальгетических антагонистов пептидной природы, сходных по структуре N- и С-концевой частям энкефалинов (рис.1). В литературе имеются работы /4/, где в качестве антагонистов наркотиков синтезированы ди- и трипептиды, состоящие из остатков насыщенных аминокислот. Нами же в основу соединений с предполагаемой активностью поставлен остаток α,β-дегидроаминокислоты. Такой подход, на наш взгляд, должен повысить устойчивость синтезированных соединений в организме.

1. Синтез α,β-дегидродипептидов.

Синтез N-замещенных α,β-дегидродипептидов ***3-33*** и их этиловых эфиров ***34,35*** осуществляли азлактонным методом / 6,7/.

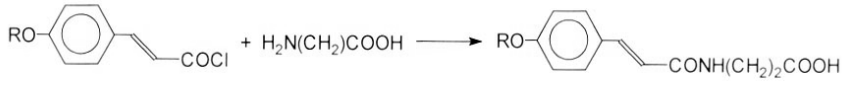


Для оценки влияния двойной связи в дегидродипептидах на биологическую активность азлактонным методом синтезированы также N-п-бутоксибензоил-фенилаланилдипептиды ***36*** и ***37***.



36 X = $(CH_2)_3$; 37 X= $CHCH_2CH_2SCH_3$

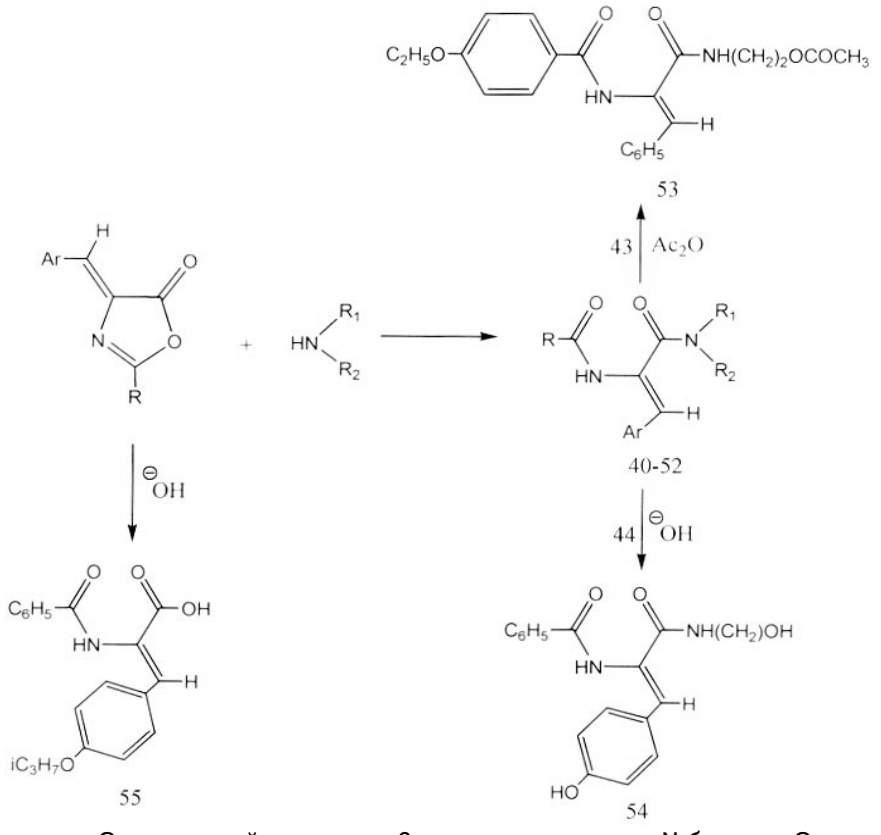
Для оценки влияния N-концевой амидной группы на биологическую активность производных α,β-дегидро-О-алкилтирозина методом Шоттена-Баумана синтезированы п-метоксикоричноил-β-аланины (***38*** и ***39***).



38 R= CH_3; 39 R= i-C_3H_7.

2. Синтез амидов α,β-дегидроаминокислот

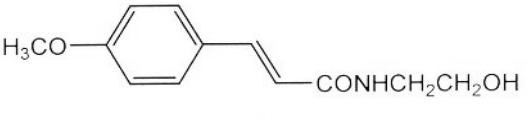
Синтез амидов N-замещенных α,β-дегидроаминокислот тоже осуществляли азлактонным методом. Ацилированием 2-гидроксиэтиламида N-n-этоксибензоил-α,β-дегидрофенилаланина (***43***) уксусным ангидридом в присутствии три-этиламина получен 2-ацетоксиэтиламид N-n-этоксибензоил-α,β-дегидрофенил- аланина (***53***).



Удаление О-ацетильной группы из 2-гидроксиэтиламида N-бензоил-О-ацетил-α,β-дегидротирозина (***44***) осуществлено с помощью едкого натра. При этом с хорошим выходом получен 2-гидроксиэтиламид N-бензоил-α,β-дегидротирозина (***54***).

Осуществлен также гидролиз 2-фенил-4-п-изопропоксибензаль-5-оксазолона, приводящий к образованию N-бензоил-О-изопропил-α,β-дегидротирозина (***55***).

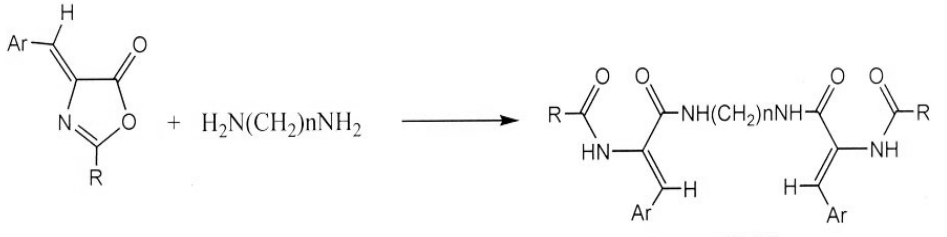
Для оценки влияния N-концевой амидной группы на биологическую активность производных α,β-дегидро-О-алкилтирозина синтезирован 2-гидрокси-этиламид п-метоксикоричной кислоты (***56***).



56

3.Синтез бис-амидов α,β-дегидроаминокислот

С целью исследования связи структура-активность производных N-замещенных α,β-дегидроаминокислот нами предпринят синтез бис-амидов N-замещенных α,β-дегидрофенилаланина или α,β-дегидротирозина ***57-66***. Синтез этих соединений осуществлен уже упомянутым азлактонным методом при соотношении азлактон – диамин 2,2 : 1 соответственно в среде органических растворителей при комнатной температуре.



n= 2,6 57-66

В качестве растворителя были применены такие органические растворители, как тетрагидрофуран или хлороформ. Попытки провести реакцию в среде этилацетата приводят к загрязнению конечного бис-амида моноамидом, растворимость которого в этилацетате очень мала.

В ПМР спектрах синтезированных пептидов ***3-35***, амидов ***38-52,*** и бис-амидов α,β-дегидроаминокислот ***57-64*** наблюдается синглетный сигнал =CH-группы ненасыщенного аминокислотного остатка в интервале 7,15-7,40 м.д., что свидетельствует о Z-конфигурации этих соединений.

4. Фармакологические свойства производных α, β-дегидроаминокислот

В биологическом отделе Института тонкой органической химии НАН РА исследовались противоморфинные, противосудорожные и антибактериальные свойства синтезированных нами амидов N-замещенных α,β-дегидроаминокислот и α,β-дегидродипептидов.

Результаты фармакологических испытаний показывают, что значительная часть синтезированных нами производных α.β-дегидроаминокислот (пептиды, амиды) на 18-60% подавляют анальгетическое действие морфина (табл.1-3). Такой результат подтверждает сделанное нами ранее предположение о возможной антиопиоидной активности производных α.β-дегидроаминокислот. Из испытанных соединений сравнительно высокую активность проявляют N-ацетил-О-метил-α.β-дегидротирозил-β-аланин (***5*** –56%), N-бензоил-О-метил-α.β-дегидротирозил-β-аланин (***12*** –60%) и 2-гидроксиэтиламид N-бензоил-3,4-диоксиметилен-α.β-дегидрофенилаланина (***48*** – 56%).

Отметим, что антиопиоидную активность проявляют также насыщенные пептиды ***35*** и ***36***. Из них N-n-бутоксибензоил-DL-фенилаланил-DL-метионин (***36***) подавляет анальгетическое действие морфина на 66%.

Проведенные противосудорожные исследования тоже подтверждают, что ряд α.β-дегидропептидов представляет интерес при создании соединений, угнетающих эффект коразола. Пептиды ***17*** и ***26*** проявляют антикоразоловую активность на 60%.

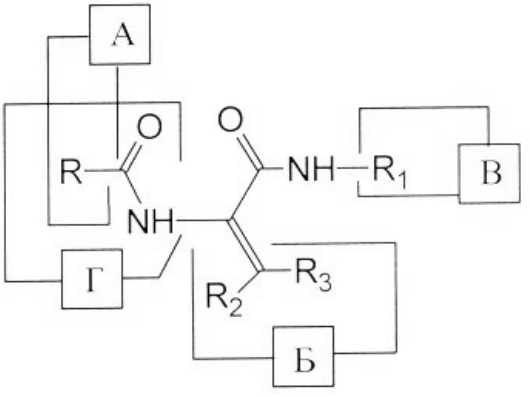
Согласно испытаниям, проведенным в Институте экспериментальной биологии НАН РА /11,12/ N-бензоил-О-изопропил-α,β-дегидротирозил-γ-амино-масляная кислота (***39***) приводит к заметному активированию процесса фосфатидогенеза, преимущественно фосфатидилхолинов (ФХ). В присутствии соединения ***39*** возрастание уровня ФХ на более чем 100% свидетельствует об участии этого соединения в качестве источника свободного холина. Вещество ***39*** способствует также нормализации свертывающей системы крови и процесса перекисеобразования при остром крупноочаговом инфаркте миокарда у белых крыс.

Таким образом, подтверждено предположение о пригодности производных α.β-дегидроаминокислот (пептиды, амиды) при создании физиологически активных соединений, проявляющих противоморфинную активность.

5. Производные α.β-дегидроаминокислот – антагонисты опиоидов. Связь между строением и активностью

Ввиду того, что большинство синтезированных производных α.β-дегидроаминокислот испытаны как антагонисты морфина, сделана попытка исследовать связь между структурой и антиопиадной активностью этих соединений.

С этой целью структуру производных α.β-дегидроаминокислот разделили на четыре части: А) N—заместитель, Б) α.β-дегидроаминокислотный остаток, В) С-заместитель, и Г) ациламидный остаток:



Рссмотрим влияние этих частей на противоморфинную активность соединений.

5.1. Влияние N-заместителя (А).

Сравнение противоморфинных свойств (табл.1) N-ацетил- (***4***), N-бензоил- (***9***) и N-п-этоксибензоил-α,β-дегидрофенилаланин-γ-аминомасляной кислоты (***26***) показывает, что структура N-заместителя мало влияет на активность пептидов. Такой результат подтверждается также при сравнении данных N-ацетил- (***5***) и N-бензоил-α,β-дегидропептидов, содержащих в С-конце остаток β-аланина ***12***. Однако в случае О-метил-α,β-дегидротирозил-ε-аминокапроновой кислоты (***7*** и ***14***) N-ацетилированный аналог ***7*** примерно в два раза активнее N-бензоилпептида ***14***. Существенное влияние на проявляемую активность наблюдается также при введении алкоксикарбонильной группы в пара-положение N-заместителя бензоил-О-метил-α,β-дегидротирозил-β-аланина (ср. данные

соединений ***12*** и ***27***). Исходя из вышесказанного можно заключить, что степень влияния N-заместителя зависит от структуры α,β-дегидроаминокислотного остатка.

5.2. Влияние дегидроаминокислотного остатка (Б)

Испытанные соединения можно разделить на три группы – вещества, содержащие остаток α,β-де-гидрофенилаланина, α,β-дегидровалина и α,β-дегидротирозина. Сравнением противоморфинных свойств пептидов ***8, 12, 16, 18, 20*** и ***21*** легко убедиться, что активность появляется в случае пептидов, содержащих остатки О-алкил-α,β-де-гидротирозина (***12,16,21***). Аналогичное явление наблюдается и при сравнении данных дипептидов ***3*** и ***5***, а также амидов ***42,43,47,54***. Сопоставлением же данных дипептидов, содержащих в С-конце остаток γ-аминомасляной кислоты можно заключить, что α,β-дегидроаминокислотный остаток (соединения ***9,13,30***) мало влияет на активность соединения. Об этом свидетельствуют также данные насыщенно-го дипептида ***35***.

5.3. Влияние С-заместителя (В).

Данные N-ацетил-, N-бензоил- и N-п-эток-сибензоил-α,β-дегидрофенилаланл- и N-бензоил-α,β-дегидровалилпептидов, содержащих остатки глицина (***23***), β-аланина (***3,8,24*** и ***29***), γ-аминомасляной кислоты (***4, 9, 25*** и ***30***) или ε- аминокапроновой кислоты (***10, 26***) свидетельствуют, что противоморфинная активность проявляется в случае γ-аминокислот ***4,9,25,30***. Однако в ряду α,β-дегидро-О-метилтирозинсодержащих пептидов (***5-7, 12-15***) все соединения проявляют противоморфинную активность, но остаток γ-аминомасляной кислоты (соединения ***6*** и ***13***) по сравнению с остатками β-аланина (***5*** и ***12***) или ε-аминокапроновой кислоты (***7*** и ***14***) отрицательно влияет на активность. Сопоставление данных амидов α,β-дегидроаминокислот (***40-51***) тоже свидетельствует в пользу О-алкил-тирозинсодержащих соединений. Однако, если в случае 4-изо-пропокси- или 3,4-диоксиметилфенилаланинов переход в С-конце от β-аланина ***16***, ***21*** к аминоэтаноловым амидам ***42***, ***47*** приводит к увеличению противоморфинных свойств, то аналогичный переход у α,β-дегидро-О-метилтирозина (соединения ***5*** и ***52***), наоборот, приводит к снижению активности. По сравнению с 2-гидроксиэтил- амидами ***42*** и ***47*** их соответствующие первичные амиды ***40*** и ***46*** проявляют сравнительно слабую противоморфинную активность. Переход амида ***40*** в соответствующую кислоту ***55*** приводит к утрате противоморфинной активности.

В ряду амидов α,β-дегидроаминокислот выделяются также 2-гидрокси-этиламид N-п-этоксибензоил-α,β-дегидрофенилаланина (***43***) и его ацетилированный аналог ***53***. Последний, несмотря на то, что является производным α,β-дегидрофенилаланина, имеет противоморфинную активность, равную активности аналога, содержащего в С-конце остаток γ-аминомасляной кислоты (***25***). Возможно, это связано с наличием карбонильной группы в С-заместителях веществ ***25*** и ***53***.

При сравнении данных противоморфинной активности бис-амидов N-замещенных α,β-дегидроаминокислот (табл.3) можно констатировать, что, в основном, активность проявляется соединениями, в структуре которых присутствует остаток α,β-дегидро-О-алкилтирозина. Как видно из табл.3, бис-амиды на основе гексаметилендиамина более активны, чем амиды на основе этилендиамина.

5.4. Влияние ациламидной группы (Г).

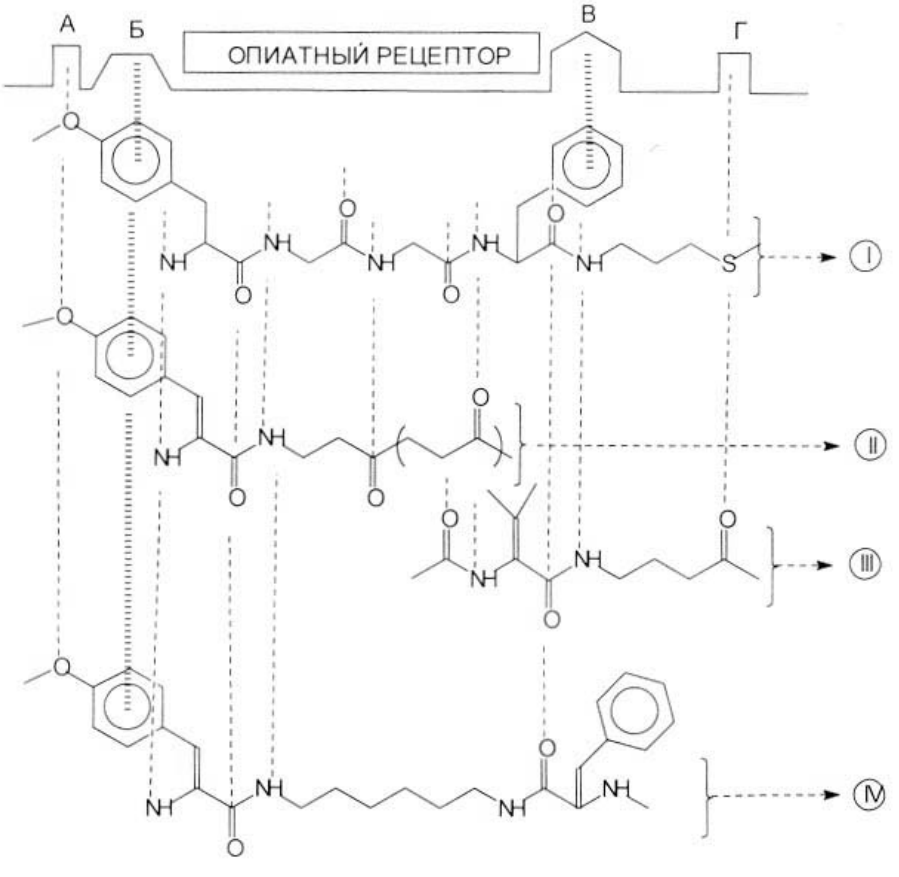
При сопоставлении противоморфинной активности α,β-дегидро-О-метилтирозил-β-аланина (***5*** и ***12***) с данными п-мет-оксикоричноил-β-аланина (***37***) можно заключить, что

деациламидирование молекулы приводит к падению активности. Однако такое положение не сохраняется в случае соответствующих изопропокси производных (ср.данные соединений ***16*** и ***38***).

Учитывая найденные особенности связи структура-активность, можно предположить, что дегидро-О-алкилтирозинсодержащие производные по сравнению с дегидрофенилаланин- или дегидровалинсодержащими производными с биологической мишенью взаимодействуют различными схемами. На рис. 1 моделированы варианты взаимодействия веществ с опиатным рецептором.

Несовершенство предложенной модели очевидно, однако она вполне приемлема при создании антиопиоидных веществ на базе производных как насыщенных, так и ненасыщенных аминокислот.

Из данных табл. 1-3 видно, что из синтезированных нами производных α,β-дегидроаминокислот О-алкилтирозинсодержащие вещества проявляют сравнительно высокую активность. Для уточнения модели взаимодействия этих веществ с опиатным рецептором, (группа соединений II на рис.1) исходя из рентгеноструктурных исследований, проведеных для N-ацетил-α,β-дегидрофе- нилаланил- (***3***) и N-ацетил-α,β-дегидро-О-метилтирозил-β-аланинов (***5***) /10/, рассчитаны расстояния некоторых, на наш взгляд - ответственных за активность, функциональных групп.



Вероятная модель взаимодействия Met-энкефалина – I, производных α,β-дегидро-О-алкилтирозина – II, α,β-дегидрофенилаланина и α,β-дегидровалина – III, а также бис-амидов α,β-дегидроаминокислот – IV.

Данные этих расчетов приведены в табл 4. При этом сравнивали данные неактивного дипептида ***3*** с данными активного пептида ***5***. Как и следовало ожидать, в результате большого сходства конформаций и геометрических параметров исследованных молекул, расстояния между гипотетически активными центрами также близки.

Такой результат подтверждает сделанное предположение о важности алкокси-группы в бензольном кольце α,β-дегидроаминокислотного остатка для проявления антиморфинной активности.

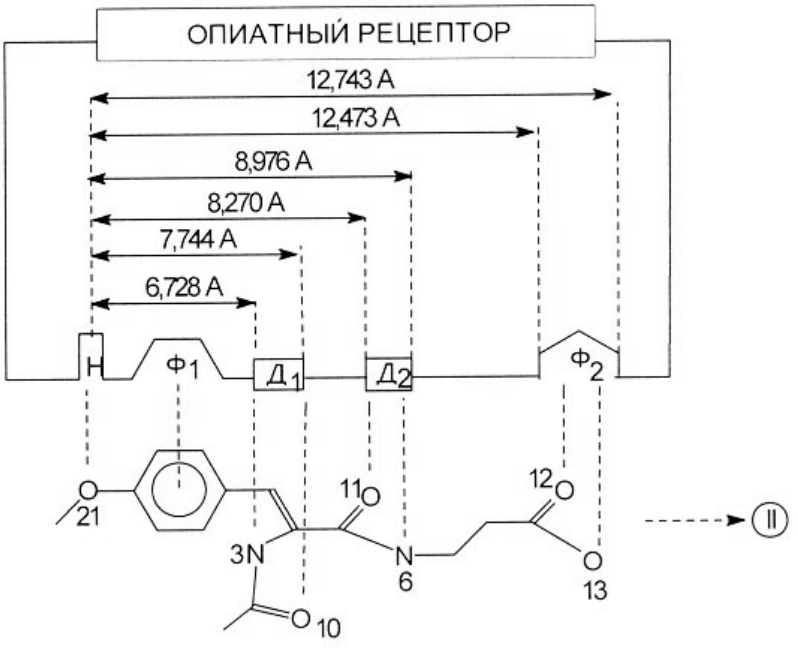


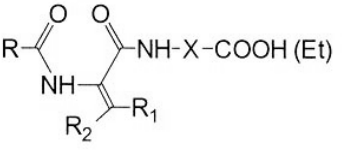
Рис.2. Моделирование взаимодействия лиганда типа II с опиатным рецептором на основе рентгеноструктурных данных соединения ***5***.

В связи с этим более уточненная модель производных α,β-дегидро-О-алкилтирозинов построена с учетом расстояний гипотетически активных элементов соединения ***5*** от кислородного атома оксигруппы (рис.2).

Таким образом, на основе производных α,β-дегидроаминокислот обнаружен новый ряд соединений, обладающих противоморфинными свойствами и предложена рабочая модель, пригодная при конструировании новых аналогов этого ряда с антиопиоидной активностью.

Таблица 1.

Данные фармакологической активности N-замещенных σ,β-дегидродипептидов 3-32, их эфиров 34,35 и насыщенных аналогов 36,37



No	R	R_1	R_2	X	АОА,%*	ПСА,%*
1	2	3	4	5	6	7
3	CH_3	H	C_6H_5	$(CH_2)_2$	0	-
4	CH_3	H	C_6H_5	$(CH_2)_3$	26,0	-
5	CH_3	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$(CH_2)_2$	56	0
6	CH_3	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$(CH_2)_3$	21,1	20
7	CH_3	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$(CH_2)_5$	45,7	-
8	C_6H_5	H	C_6H_5	$(CH_2)_2$	0	50
9	C_6H_5	H	C_6H_5	$(CH_2)_3$	24,2	40
10	C_6H_5	H	C_6H_5	$(CH_2)_3$	0	0
11	C_6H_5	H	C_6H_5	$CH(C_6H_5)CH_2$	18,6	-
12	C_6H_5	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$(CH_2)_2$	60,3	0
13	C_6H_5	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$(CH_2)_3$	18,4	20
14	C_6H_5	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$(CH_2)_5$	23,4	20
15	C_6H_5	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$CH(CH_3)CH_2$	46,6	0
16	C_6H_5	H	$C_6H_4OC_3H_7$-i-4	$(CH_2)_2$	27,7	20
17	C_6H_5	H	$C_6H_4OCOCH_3$-4	$CHCH_3$	0	60
18	C_6H_5	H	$C_6H_4OCOCH_3$-4	$(CH_2)_2$	0	20
19	C_6H_5	H	C_6H_4OH-4	$CHCH_3$	0	0
20	C_6H_5	H	C_6H_4OH-4	$(CH_2)_2$	0	40
21	C_6H_5	H	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	$(CH_2)_2$	37,4	0
22	C_6H_5	H	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	$CH(CH_2)_2SCH_3$	39,0	0
23	4-$C_2H_5OC_6H_4$	H	C_6H_5	CH_2	0	-
24	4-$C_2H_5OC_6H_4$	H	C_6H_5	$(CH_2)_2$	0	-
25	4-$C_2H_5OC_6H_4$	H	C_6H_5	$(CH_2)_3$	32,8	0
26	4-$C_2H_5OC_6H_4$	H	C_6H_5	$(CH_2)_5$	29,0	60
27	4-$C_4H_9OC_6H_4$	H	$C_6H_4OCH_3$-4	$(CH_2)_2$	18,0	-
28	4-i-$C_4H_9OC_6H_4$	H	C_6H_5	$(CH_2)_2$	0	-
29	C_6H_5	CH_3	CH_3	$(CH_2)_2$	0	20
30	C_6H_5	CH_3	CH_3	$(CH_2)_3$	26,1	20
31	C_6H_5	H	C_6H_5	$CH(CH_2)_2SCH_3$	39,8	-
32	C_6H_5	H	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	$CHCH_3$	0	-
34	4-$C_2H_5OC_6H_4$**	H	C_6H_5	$(CH_2)_2$	0	-
35	4-i-$C_4H_9OC_6H_4$**	H	C_6H_5	$(CH_2)_2$	0	-
36	4-$C_4H_9OC_6H_4$***	H	C_6H_5	$(CH_2)_3$	33,8	20
37	4-$C_4H_9OC_6H_4$***	H	C_6H_5	$CH(CH_2)_2SCH_3$	66,7	-
38	4-$CH_3OC_6H_4CH$=$CHCONHCH_2CH_2COOH$				38,7	-
39	4-i-$C_3H_7OC_6H_4CH$=$CHCONHCH_2CH_2COOH$				28,4	0

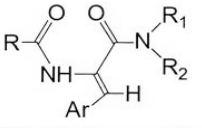
*АОА – антиопиатная активность, ПСА – противосудорожная активность.

** этиловые эфиры

*** насыщенные аналоги

Таблица 2.

Данные фармакологической активности амидов N-замещенных σ,β-дегидроаминокислот

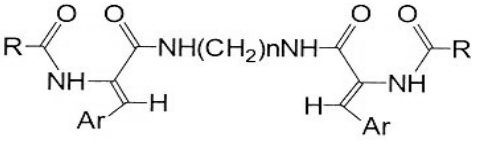


No	R	Ar	R_1	R_2	АОА,%*	ПСА,%*
40	C_6H_5	$C_6H_4OC_3H_7$-i-4	H	H	19	20
41	C_6H_5	$C_6H_4OC_3H_7$-i-4	$(CH_2)_4$		0	40
42	C_6H_5	$C_6H_4OC_3H_7$-i-4	H	CH_2CH_2OH	43	20
43	4-$C_2H_5OC_6H_4$	C_6H_5	H	CH_2CH_2OH	0	-
44	C_6H_5	$C_6H_4OCOCH_3$-4	H	CH_2CH_2OH	0	40
45	C_6H_5	$C_6H_4OCOCH_3$-4	$(CH_2)_2O(CH_2)_2$		21,3	0
46	C_6H_5	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	H	H	40,7	0
47	C_6H_5	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	H	CH_2CH_2OH	47,0	0
48	C_6H_5	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	H	$CH_2CH_2CH_2OH$	56,6	-
49	C_6H_5	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	H	$CH_2CH_2C_6H_5$	49,0	0
50	C_6H_5	$C_6H_3O_2CH_2$-3,4	H	$CH_2CH=CH_2$	40,0	-
51	C_6H_5	$C_6H_4OCH_3$-4	H	$CH_2CH_2C_6H_5$	44,6	-
52	CH_3	$C_6H_4OCH_3$-4	H	CH_2CH_2OH	30,0	-
53	4-C_2H_5O C_6H_5	C_6H_5	H	$CH_2CH_2OCOCH_3$	32,7	-
54	C_6H_5	C_6H_4OH-4	H	CH_2CH_2OH	0	-
56	4-$CH_3OC_6H_4CH$=$CHCONHCH_2CH_2OH$				0	-

Антиопиоидная активность N-Бензоил-О-изопропокци-α,β-дегидротирозона (***55***) 0%.

Таблица 3.

Данные фармакологической активности бис-амидов N-замещенных σ,β-дегидроаминокислот



No	R	Ar	n	АОА,%*	ПСА,%*
57	CH_3	$C_6H_4OCH_3$-4	2	0	0
58	CH_3	$C_6H_4OCH_3$-4	6	41,0	0
59	C_6H_5	C_6H_5	2	46,4	-
60	C_6H_5	C_6H_5	6	0	0
61	C_6H_5	$C_6H_4OCH_3$-4	2	13,0	-
62	C_6H_5	$C_6H_4OCH_3$-4	6	50,3	0
63	C_6H_5	$C_6H_4OC_3H_7$-i-4	2	37,6	-
64	4-i-$C_4H_9OC_6H_4$	C_6H_5	2	0	20
65	4-i-$C_4H_9OC_6H_4$	C_6H_5	6	0	40
66	4-$C_4H_9OC_6H_4$	C_6H_5	6	0	-

Таблица 4.

Данные растояний некоторых функциональных групп в Е для соединений *3* и *5*

Нумерация атомов*	Соединение *3*	Соединение *5*	Нумерация атомов*	Соединение *3*	Соединение *5*
$O_{21} - N_3$	-	6,728	A** - O_{10}	5,62	5,44
$O_{21} - O_{10}$	-	7,744	A** - O_{11}	5.67	5,58
$O_{21} - O_{11}$	-	8,270	A** - O_{12}	9,87	9,83
$O_{21} - O_{12}$	-	12,473	$O_{11} - O_{12}$	5,25	5,31
$O_{21} - O_{13}$	-	12,743	$O_{11} - O_{13}$	4,804	4,771
$O_{21} - N_3$	-	6,728	$N_6 - O_{10}$	3,293	3,447
$O_{21} - N_6$	-	8,976	$N_6 - O_{12}$		4,804
$O_{10} - O_{11}$	3,88	3,84	$N_6 - N_3$	2,784	2,823
$O_{10} - O_{12}$	8,03	8,20			
$O_{10} - O_{13}$	7,023				

* см. рис. 2
**центр бензольного кольца

ЛИТЕРАТУРА

1. Холлоуэй М. Лекарства от наркомании. В мире науки (Scientific american. Издание на русском языке). 1991, No 5, с.69-79.
2. Hughes J., Smith T.W., Kosterlitz H.W., Fothergill L.A., Morgan B.A., Morris H.R. // Nature, 1975, v.258, No 5536, pp.577-579.
3. Булаев В.М. В кн. Опиоидные пептиды и их рецепторы. Под ред. Ашмарина И.П. (Итоги науки и техники. Серия:Фармакология, химиотерапевтические средства, т.13), М.: ВИНИТИ, 1982, с.101-184.
4. Розенталь Г.Ф., Чипенс Г.И. // Биоорган.химия, 1986, т.12, No 7, с.869-897.
5. Bower J.D., Handa B.K., Lane A.C., Morgan B.A., Rance M.J., Smith C.F., Wilson A.N. In: Peptides // Proc.of the 7-th Amer.Pept.Symp./ Eds. Rich D.H., Gross E. Rokford, Illinois: Pierce Chemical Company, 1981, pp.607-612.
6. Топузян В.О., Несунц Н.С., Мнджоян О.Л., // Хим.-Фарм.ж., 1992, т. 26, No 7-8, с.31-34.
7. Топузян В.О., Акопян А.З., Дургарян Л.К., Власенко Э.В., Пароникян Р.Г., Пароникян Р.В., Тер-Захарян Ю.З. . Синтез и биологические свойства N-замещенных α,β-дегидродипептидов. Хим.-Фарм.ж., 1995, т.29, No 3, с.42-44.
8. Овакимян С.С., Джанполладян Е.Г., Топузян В.О., Киракосян Н.А., Овсепян А.М., Карагезян М.К., Казарян Г.С., Карагезян К.Г. N-Бензоил-α,β-дегидро-О-изопропилтирозил- производное гамма-аминомасляной кислоты как синтетическое соединение с мощным антиоксидантным действием и эффективный регулятор процессов биосинтеза фосфолипидов в перифокальных участках моделированного инфаркта миокардиальной ткани у белых крыс. Тезисы докладов. X Международная конференция по химии органических и элементорганических пероксидов. Москва, 16-18 июня, 1998, с.В29.

9. Карагезян К.Г., Топузян В.О., Овакимян С.С., Джанполадян Е.Г., Киракосян Н.А., Овсепян Л.М., Карагезян М.К. Молекулярный механизм радиопротекторного действия синтетического N-бензоил-β-изопропилтирозил производного гамма-аминомасляной кислоты. IV Съезд по радиационным исследованиям.
Тезисы докладов, Москва 2001, том II, с.450.

10. Карапетян А.А., Топузян В.О., Стручков Ю.Т. Кристаллические и молекулярные структуры моногидрата N-ацетил-α,β-дегидрофенилаланил-β-алани-на и N-ацетил-α,β-дегидро-О-метилтирозил-β-аланина. Ж. структ. хим., 1992, т. 33, No 3, с.151-154.

СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ α,β-ДЕГИДРОАМИНОКИСЛОТ С ЦЕЛЬЮ ИЗЫСКАНИЯ ОПИОИДНЫХ АНТАГОНИСТОВ

В.О. Топузян
Институт тонкой органической химии НАН РА, Республика Армения

Обсуждаются некоторые закономерности связи структура-активность производных α,β-дегидроаминокислот и их противоморфинной активности. На этой основе предлагается модель взаимодействия антагонистов морфия с опиоидным рецептором.

SYNTHESIS OF DERIVATIVES OF α,β-DEHYDROAMINO ACIDS AS MORPHINE ANTAGONISTS

V.O. Topuzyan
Institute of Fine Organic Chemistry NAS RA, Republic of Armenia

Structure – activity relationship for derivatives of α,β-dehydroamino acids and its antimorphinic activity have been investigated. A model of the interaction of morphine antagonists with opioid receptor has been suggested

УДК 547.8+577.1+539.047

АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ЭТИЛОВЫХ ЭФИРОВ САЛИЦИЛИДЕН - И НИКОТИНИЛ – АМИНОКИСЛОТ В ВИДЕ ХЕЛАТОВ ДВУХВАЛЕНТНЫХ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ

Р. В Пароникян[1], Г.М. Степанян[1], К.П. Григорян[1], С. А. Казарян[1,2]

1. *Институт Тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НАН, пр. Азатутян, 26, Ереван, Армения.*
2. *Медицинский институт им. Меграбяна, Армения*

Ключевые слова – Шиффовые основания, хелаты, антибактериальная активность.

Key words: Schiff amino acids, Schiff amino acidic chelates, antibacterial activity

Проблема изыскания новых антибактериальных средств по- прежнему привлекает большое внимание. Фармакологические исследования в ряду хелатов таких переходных металлов, как Cu(II), Mn(II), Co(II), Zn(II) с аминокислотами, пептидами и жирными кислотами представляет большой интерес в качестве возможных противоопухолевых, антиметастатических, антибактериальных средств[1].

Известно, что хелаты салицилидепроизводных переходных металлов показывают антимикробный активность на грам-положительных (Staphylococous aureus) и на грам-отрицательных (Escherichia coli) бактериях при тесте методом двухкратного серийного разведения [2-4], а также обладают другими важными свойствами для жизнедейтельности организма, особенно в виде Шиффовых оснований аминокислот и пептидов [5-9].

Нами исследовано антибактериальное действие хелатов этиловых эфиров Cu(II) салицилиден-DL- тирозин(1), -D-валина(2) –L-β-фенил–α-аланина(3), -D-β-фенил–α-аланина(4),а также Mn(II) хелата салицилиден - DL-тирозина(5), Co(II) хелатов никотинил –DL-триптофана(6) и салицилиден -D-β-фенил–α-аланина(табл.1), общепринятым методом – метод дифузии в агар [10] при микробной нагрузке $2 \cdot 10^6$ микробных тел в 1мл среды.

В опытах использовались грам-положительные стафилококки (209Р, 93, 1) и грам-отрицательные палочки (кишечная, брюшнотифозная, дизентерийная).

Наиболее активные соединения были изучены также при генерализованной стафилококковой и дизентерийной инфекции белых мышей [11]. В качестве положительного контроля использовали известный препарат – фуразолидон.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В чашечке Петри диаметром 9см разливался расплавленный агар в два слоя: 1-й слой питательного агара наливали по 10мл, 2-й слой агара, содержащий определенной плотности суспензию тест организма, разливали на застывшую поверхность первого слоя в количестве 5мл на чашку.

После застывания засеянного агара на поверхность его были нанесены исследуемые соединения по 4мг.

Чашки помещались в термостат при температуре 37^0 на 20-24 часа, после чего измеряли диаметр зоны задержки роста тест-микроба в мм.

При исследовании было выявлено, что соединения оказывают слабое антибактериальное действие в отношении различных штаммов тест-культур.

Так, соединения (1,2,3) проявили бактерицидное действие в отношении всех использованных стафилококков, угнетая их рост в зоне диаметром 9-14мм(табл.1), а в отношении грам-отрицательных микроорганизмов были полностью лишены активности.

Соединения же (4,5,6) из всех вышеуказанных культур действуют только на дизентерийную палочку, величина задержки роста их составляет 8-12мм.

В результате изучения было установлено что данные вещества по активности уступают известному препарату – фуразолидон.

Табл. 1

ВЕЛИЧИНА ЗОНЫ УГНЕТЕНИЯ РОСТА, мм

N соединения	Общая формула соединения	Стафилококки			Грам-отрицательные палочки		
		209р	93	1	Flexneri 6858	E.coli 0-55	E.typhi 79
1		10	14	14	0	0	0
2		10	14	11	0	0	0
3		9	12	9	0	0	0
4		0	0	0	8	0	0
5		0	0	0	10	0	0
6		0	0	0	12	0	0
7		0	0	0	10	0	0
	Фуразолидон	25	22	23	22	21	21

Эксперименты по изучению соединений (1,6) были проведены на беспородных белых мышах обоего пола. Для определения химиотерапевтических свойств использовали животных массой 16-18г., для определения токсичности – 18-20г.

В опытах на здоровых мышах было определена острую токсичность. Соединения (1,6) вводили внутрь, однократно в объеме 0,5мл в дозах 500, 1000мг/кг (разведение в 0,5%-ном растворе карбоксиметилцеллюлозы). Наблюдение за животными проводилось в течение 7дней. Введение указанных доз не приводило к гибели животных, не вызывало изменения их поведения и состояния. Дальнейшее повышение дозы было посчитано нецелесообразным в

связи с нерастворимостью соединения и невозможностью его введения в заданном объеме растворителя. Таким образом, максимально переносимая доза соединении(1,6) больше 1000мг/кг.

Химиотерапевтическое действие соединений (1,6) было изучено при экспериментальной стафилококковой и дизентерийной инфекции белых мышей. Инфекцию вызывали путем внутибрюшинного введения суточной агаровой культуры тест-микроба в виде взвеси в физиологическом растворе в объеме 1мл. Использовалась доза, вызывающая гибель 90-100% нелеченных контрольных животных через 24-48ч. после инфицирования.

Стафилококковая инфекция вызывалась штаммом 93, дизентерийная – палочкой Флекснера 6858. Соединения вводили внутрь однократно, одновременно с заражением в дозе 500мг/кг. Животные находились под наблюдением в течение 10 суток.

Установлено, что только соединение (1) при однократном введении внутрь в дозе 500мг/кг при стафилококковой инфекци повышает продолжительность жизни мышей на 20%.

В идентичных условиях фуразолидон проявляет химиотерапевтичеслое действие при стафилококковой и дизентерийной инфекции, продлевая жизнь зараженных животных на 60-70%.

Таким образом, изученные соединения обладают слабым антибактериальным свойством, что указывает о целесообразности поиска новых более активных нтибактериалзных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Skozafava A., Supuran C.T. - Carbonic anhydrase and matrix metalloproteinase inhibitors: sulfonylated amino acid hydroxamates with MMP inhibitory properties Act As Efficient inhibitors of CA isozymes I, II, and IV, and N-Hydroxysulfonamides inhibit both these zinc enzymes - J.Med.Chem. 2000, 43, p.3677-3687.
2. Hodneth E.M., Dunn W.J. J. Med. Chem., 1970, 13, 768
3. Donald C.G., Williams A.R., In: Assay Methods of Antibiotics, A Laborarory Manual, Medical Encyclopedia INC, 1955
4. Kiram Singh, Manjeet Singh Barwa, Parikshit Tyagi Synthesis, Characterization and Biological studies of Co (II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with bitentate Schiff bases derived by heterocyclic ketone. European Journal of Medicinal Chemistry 41, Issu 1, p. 147-153, 2006-07-21
5. Sorenson, J.R.J. Copper complexes offer a physiologic approach to treatment of chronic diseases. In: Ellis G.P. West, G.B. eds, Progress in Medical Chemistry, Elsevier, Amsterdam, 1989, 26, 437-568
6. Sorensom, J.R.J. Copper complexes for therapy of cancer and autoimmune diseases. In: Rainsford, K.D.; Milanino R.; Sorenson, J.R.J., Velo, G.P. eds. Copper and Zinc in Inflammatory and Degenerative Diseases, Kluwer Academic Publishers, 1998, 113-125

7. Parashar R. K., Sharma R.C., Mohab G., Synthesis and Biological activity of some copper tridentate Schiff Bases, In: Sorenson, J.R.J, ed Biology of Copper Complexes, Humana Press, Clifton, NJ. 1987, 533-540
8. Nath M., Kamaluddin; Cheema. J., Copper(II) complexes of salicylideneamino acid Schiff ases as models: Peroxidase and catalase. Indian J. Chem., 1993, 32A(2), 108-113.
9. Klotz L.O., Weser U., Biological chemistry of copper compounds: In: Rainsford K.D.; Milanino R., Sorenson J.R.J, Velo. G.P. eds: Copper and Zinc in Inflammatory and Degenerative Diseases. Kluwer Academic Publishers, 1998, 19-46.
10. Егоров Н.С. ,, Основы учения об антибиотиках '' М., ,,Высшая школа'' 1979, с. 171-176
11. Падейская Е.Н. В кн.: ,, Методы экспериментальной химиотерапии'' М.,,Медицина'' 1971. с.106-116.

Անցողիկ մետաղների որոշ Շիֆֆ –ի հիմքերի ամինաթթվական խելատների հակաբակտերիալ ազդեցությունը

Ռ.Վ. Պարոնիկյան, Հ.Մ. Ստեփանյան, Կ.Պ. Գրիգորյան, Ա.Ի, Ղևոնդյան, Ս.Հ. Ղազարյան

Կատարվել է անցողիկ մետաղների որոշ Շիֆֆ ամինաթթվական խելատների հակաբակտերիալ հատկությունների ուսումնասիրություն 209P, 93, 1 – ստաֆիլոկոկերի, Ֆլեկսների 6858, E.coli 0-55 և E. typhy 79 շտամների վրա:

Պարզվել է, որ տվյալ միացությունները օժտված են թույլ արտահայտված հակաբակտերիալ ազդեցությամբ, in vitro պայմաններում:

Antibacterial Activity of some Schiff Bases Amino Acidic Chelates of Transitron Metals

R.V. Paronikyan, H.M. Stepanyan, K.P. Grigoryan, A.I. Ghevondyan, S.H. Ghazaryan

The antibacterial activity of some Schiff amino acidic chelates of transitron metals was studied on Staphylococcus 209P, 93,1, Flexner 6858, Escherichia coli 0-55 and Escherichia typhy 79 bacteria strains. It has been found, that the given compounds have feebly marked antibacterial activity in vitro.

ON THE MECHANISM OF THE EFFECT OF STRUCTURAL ANALOGS OF ACETYLCHOLINE ON ANTIGRADIENT ^{22}NA EFFLUX FROM THE CELLS

Ghazaryan S.H.[1,2*], Grigoryan K.P.[1], Azatyan K.V.[3], and Ayrapetyan S.N.[3]

[1] INSTITUTE OF FINE ORGANIC CHEMISTRY, NAS OF ARMENIA, YEREVAN.
[2] Medical Institute after Mehrabyan, Yerevan, Armenia
[3] LIFE SCIENCES INTERNATIONAL HIGHER EDUCATIONAL SCHOOL, NAS OF ARMENIA, HASRATIAN ST. 7, 375014 YEREVAN, ARMENIA. TEL: (3742) 28 1772; FAX: (3742) 28 8427; E-mail: biophys@ipia.sci.am

Key words: acetylcholine; structural analogs of acetylcholine, ^{22}Na efflux, Na:Ca exchange

Ключевые слова: ацетилхолин, структурные аналоги ацетилхолина, выход ^{22}Na, Na:Ca обмен.

ABSTRACT

1. Effect of structural analogs of acetylcholine (ACh): choline esters of N-para- and ortho-alkoxybenzoyl-β-alanines, (CH_3O-, C_2H_5O-, C_3H_7O-, iso-C_3H_7O-, C_4H_9O-, iso-C_4H_9O-, $C_5H_{11}O$-, iso-$C_5H_{11}O$-) (in all 16 combinations), possessing cholinomimetic properties, on both ouabain-sensitive and ouabain-insensitive fractions of ^{22}Na efflux from the neurons of Helix pomatia was studied.

2. Effect of choline esters of para- and ortho-alkoxybenzoyl-β-alanines on the active efflux of ^{22}Na ions from the cells in normal physiological solution depends on the spatial arrangement of functionally active groups in the benzoyl group of compounds. This activity is decreased at transition from ortho-alkoxy- substituted to para-alkoxy- derivates of benzoic acid.

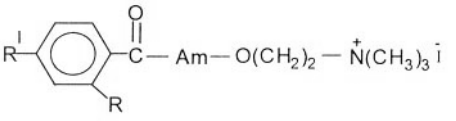
3. All the choline esters of para- and ortho-alkoxybenzoyl-β-alanines stimulate the ouabain insensitive ^{22}Na efflux from the cells.

4. Choline esters of para-, ortho-CH_3O-benzoyl-β-alanines increase both ouabain-sensitive and ouabain insensitive ^{22}Na efflux from the cells.

5. Choline esters of para-, ortho-C_3H_7O-benzoyl-β-alanines inhibit the ouabain-sensitive, meanwhile activate the ouabain insensitive ^{22}Na efflux from the cells.

INTRODUCTION

In our previous works on the model of dialyed Helix pomatia neuron we have studied membrane mechanisms of cholinomimetic effect of synthesized by us choline esters of ortho- and para-alkoxybenzoyl-β-alanines, containing alkoxy radicals in either para- or ortho- positions of benzoyl group:



where Am=β-alanine, R = CH_3O-, C_2H_5O-, C_3H_7O-, iso-C_3H_7O-, C_4H_9O-, iso-C_4H_9O-, $C_5H_{11}O$-, iso-$C_5H_{11}O$-; R'=CH_3O-, C_2H_5O-, C_3H_7O-, iso-C_3H_7O-, C_4H_9O-, iso-C_4H_9O-, $C_5H_{11}O$-, iso-$C_5H_{11}O$-.

On dialyzed Helix pomatia neurons it was shown, that in spite of the fact that these compounds are cholinomimetics (3, 4) they differ in the membrane mechanisms of their effect. Obtained results allowed to suggest that choline esters which had C_3H_7O- and iso-C_3H_7O- radicals in ortho- and para-positions of benzoyl group were N-cholinomimetic, while choline esters of para-butoxybenzoyl-β-alanine - M-cholinomimetic (4,5). The other possible mechanism of their action can be due to the effect on Na-K pump activity. To clarify this question the effect of the mentioned compounds on antigradient efflux of sodium ions was studied in the present work.

It is known that the antigradient sodium efflux from the cells consists of two components: ouabain-sensitive and ouabain-insensitive (2,6). The ouabain-sensitive one posseses the function of Na-K pump, the power substrate of which is ATP, and the specific inhibitor -ouabain. Ouabain-insensitive efflux of sodium ions is provided mainly by Na:Ca exchange, the functional activity of which is realized through cyclic nucleotides system.

To study the mechanism of choline esters of ortho- and para-alkoxybenzoyl-β-alanines effect on both ouabain-sensitive and ouabain-insensitive components of ^{22}Na efflux, the effect of these compounds on the rate constant of active ^{22}Na efflux from the cells was investigated.

MATERIALS AND METHODS

Experiments were carried out on the isolated central nervous system of Helix pomatia. Ganglia were isolated from animals, weighted and distributed by groups, which were of about the same weight (three ganglia in each group). Then ganglia were incubated during 3 hrs in Ringer cold (4° C) potassium-free solution, in which 50% of sodium ions were replaced by ^{22}Na isotope (specific activity 4,2 mCi/ml). To remove radioactive sodium from the extracellular medium of ganglia after their saturation by these ions they were placed for 30 min in potassium-free (K-free) cold Ringer solution, then ganglia were transferred to the appropriate experimental media containing choline eters of ortho- and para-alkoxybenzoyl-β-alanines (10^{-4} M). The incubation time in the experimental media was 2 min - for the first three tests, 3 min - for the following three tests, and 5 min - for the last but one test: in the last test-tube ganglia were located. All the tubes were counted in a crystal-well gamma spectrometer and the rate constant of ^{22}Na efflux from the cells was calculated (1,6). The normal physiological solution used had the following composition (mmol): NaCl 80; KCl 4; $CaCl_2$ 7; $MgCl_2$ 13; Tris-HCl (pH 7,8), 10; and glucose -10. In potassium-free solution KCl was replaced by the equimolar quantity of NaCl.

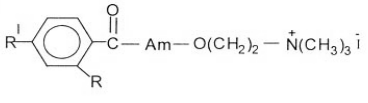
RESULTS AND DISCUSSION

The data on the effect of choline esters of N-alkoxybenzoyl-β-alanines on the active efflux of ^{22}Na ions from the cells in normal physiological and K-free solutions are given in Table. In the first and second columns choline esters of N-alkoxybenzoyl-β-alanines are shown, which have functionally active radicals in either ortho- (R) or para- (R') positions of benzoyl group.

As it is shown in the Table 1, in normal physiological solution choline esters of ortho-alkoxybenzoyl-β-alanines have various effects on the active efflux of sodium ions from the cells. Choline ester of ortho-CH_3-benzoyl-β-alanine increases the active efflux of ^{22}Na ions from the cells by 26.95±11.04% (see Table, preparation 1). Choline esters of ortho-C_3H_7O- and iso-C_3H_7O- benzoyl-β-alanine reduce the efflux of ^{22}Na ions from the cells by 29.12±6.71% and 13.33±12,7%, respectively (Table, preparations 3, 4). The other compounds have practically no effect on the antigradient efflux of ^{22} Na ions from the cells as compared with control. It can be seen from the Table that in normal physiological solution choline esters of alkoxybenzoyl-β-alanines reduce the efflux of ^{22}Na ions from the cells by 8-24% (Table). The most expressed inactivating effect is observed in choline ester of para-C_3H_7O-benzoyl-β-alanine, which decreases the efflux of ^{22}Na ions from the cells by 24.43±9.66% (Table, preparation 11). Choline ester para-CH_3- benzoyl-β-alanine is an exception as it increases the active efflux of sodium ions from the cells by 21.95±4.48% (Table, preparation 9).

Table1

Effect of choline esters of ortho- (R) and para- (R′) alkoxybenzoyl-β-alanines on the active efflux of ^{22}Na ions from the cells

		Rate constant of ^{22}Na efflux in % from the cells	
R	R′	normal physiol. solution *	K-free solution*
1. CH_3O-		126,95 ±11,04	156,52±22,09
2. C_2H_5O-		98,82±20,47	119,02±12,4
3. C_3H_7O-		70,88 ±6,71	131,37±17,46
4. iso-C_3H_7O-		86,14±12,7	125,48±11,88
5. C_4H_9O-		101,25±13,95	140,36±32,5
6. iso-C_4H_9O-		100,00±15,33	118,15±25,76
7. $C_5H_{11}O$-		96,89±17,82	107,57±22,92
8. iso-$C_5H_{11}O$-		98,38±16,92	108,33±31,33
9.	CH_3O-	121,95± 4,48	133,52±9,93
10.	C_2H_5O-	86,46±9,26	122,79±13,32
11.	C_3H_7O-	75,57±9,66	134,87±14,42
12.	iso-C_3H_7O-	80,93±10,08	123,91±11,73
13.	C_4H_9O-	82,5± 4,8	118,14±26,14
14.	iso-C_4H_9O-	87,76±8,79	115,89±17,06
15	$C_5H_{11}O$-	91,77±6,76	107,42±10,58
16.	iso-$C_5H_{11}O$-	90,99±7,36	109,98±15,85

Note: *- the rate constants of ^{22}Na efflux from the cells in normal and K-free solutions, respectively, are considered as 100%.

Thus the obtained data show that in normal physiological solution choline esters of para- and ortho-alkoxybenzoyl-β-alanines have different effects on the active efflux of ^{22}Na ions from the cells. This activity depends on the spatial arrangement of functionally active groups in the benzoyl group. This activity is decreased at transition from ortho-alkoxy-substituted to para-alkoxy-derivates of benzoic acid. So, choline esters of ortho-alkoxybenzoyl-β-alanines generally do not change the active efflux of ^{22}Na ions compared with control (Table, preparations 2, 5, 6, 7, 8), while choline esters of para- alkoxybenzoyl-β-alanines decrease it. The greatest activating effect in both groups is observated by the application of preparations which have a methoxy radical in ortho- or para- positions of benzoyl group. Choline esters with propoxy radicals significantly inactivate the efflux of ^{22}Na ions from the cells.

To find out the effect of synthesized compounds on Na: Ca exchange the further experiments were carried out in K-free solution containing ouabain (10^{-4}M), i.e. in conditions of maximum inactivation of Na-K pump (2,5). It is shown, that the inactivation of Na-K pump causes the inhibition of the active efflux of sodium ions from the cells by 24.56 %. As it is seen from the Table all choline esters of ortho-and para-alkoxybenzoyl-β-alanines stimulate the ouabain-insensitive ^{22}Na efflux from the cells (Table). Among choline esters of ortho-alkoxybenzoyl-β-alanines, the choline ester of ortho-CH_3O-benzoyl-β-alanine increases the rate of active enfflux of sodium ions from the cells by 56,52±20,9% (Table, preparation 9).

The activating effect is also observed in choline esters of ortho-C_3H_7O- and ortho-C_4H_9O-benzoyl-β-alanines, which activate it by 31.46±17.46 % and 40.36±32.5 %, respectively (Table, preparations 3, 5). Compounds, which have $C_5H_{11}O$- and iso-$C_5H_{11}O$- radicals in ortho- position in benzoyl group, produce low activity of ^{22}Na efflux from the cells (Table, preparations 7, 8). It is seen from the Table (column 2) that in conditions of Na-K pump inactivation, para-derivatives of choline esters also activate the antigradient efflux of sodium ions from the cells. In this group the greatest activity is expressed by compounds with methoxy- and propoxy- radicals, which activate ^{22}Na ions efflux by 33% - 34% (Table, preparations 19, 11). As it is seen from the Table the least activating effect is produced by choline ester of para-iso-$C_5H_{11}O$-benzoyl-β-alanine, which activates ^{22} Na ions efflux from the cells only by 7 % (Table, preparation 16). Thus, in conditions of maximum inactivation of Na-K pump, choline esters of ortho- and para-alkoxybenzoyl-β-alanines activate the antigradient ^{22}Na efflux from the cells in various extens. The most expressed activating effect is in choline esters of para- and ortho-CH_3O-, C_3H_7O-, iso-C_3H_7O- and C_4H_9O-benzoyl-β-alanines. Compounds with $C_5H_{11}O$- and iso-$C_5H_{11}O$- radicals decrease ^{22}Na efflux from the cells.

The effect of ortho- and para CH_3O-benzoyl-β-alanines on the rate constant of ^{22}Na efflux from the cells in normal physiological and K-free solutions is shown in Figure 1. As it is seen from this figure (A) choline esters of ortho- and para-CH_3O-benzoyl-β-alanines increase the active efflux of sodium ions in norm, and this activating effect is maintained in potassium-free solution (Fig. 1B).

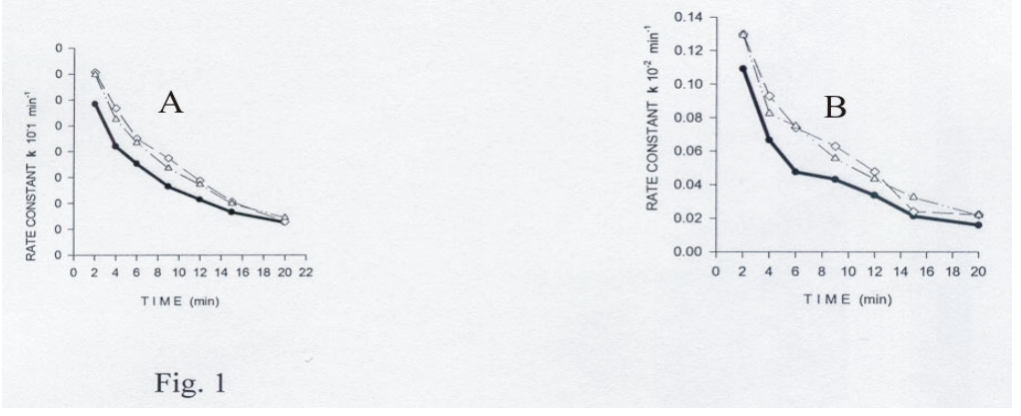


Figure 1. Effect of choline esters of ortho- and para- CH_3O-benzoyl-β-alanines on the rate constant of ^{22}Na efflux from the cells in normal physiological solution (A) and in potassium-free solution (B). A:•- normal physiological solution , ◊- choline esters of ortho-CH_3O-benzoyl-β-alanine, ∇- choline esters of para-CH_3O-benzoyl-β-alanine. B:•- potassium-free solution containing ouabain (10^{-4} M), ◊- choline ester of ortho-CH_3O-benzoyl-β-alanine, ∇- choline esters of para-CH_3O-benzoyl-β-alanine.

Compounds with C_3H_7O- radical decrease the rate of ^{22}Na efflux from the cells in normal physiological solution (Fig. 2A), while in K-free solution their activating effect is expressed (Fig. 2 B).

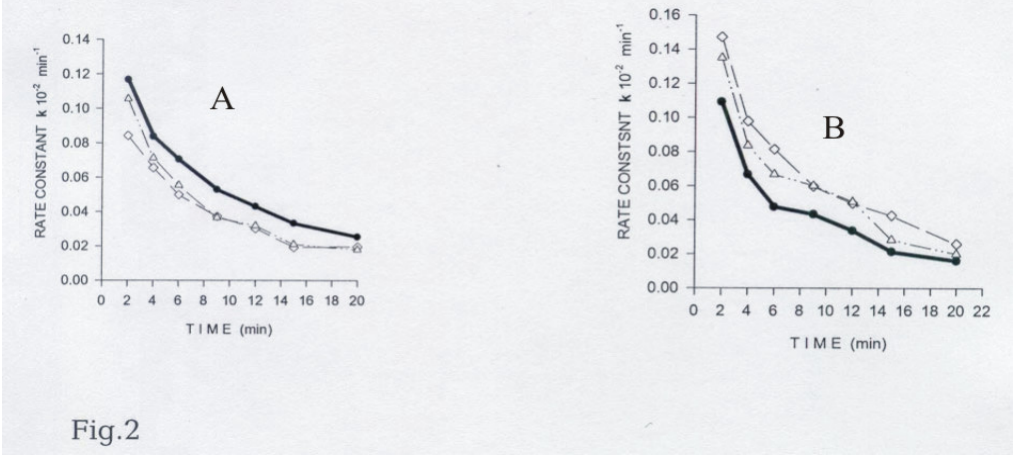


Figure 2. Effect of choline esters of ortho- and para-C_3H_7O-benzoyl-β-alanines on the rate constant of ^{22}Na efflux from the cells in normal physiological solution (A) and in potassium-free solution (B). A: •- normal physiological solution , ◊- choline esters of ortho-C_3H_7O-benzoyl-β-alanine, ∇- choline esters of para-C_3H_7O-benzoyl-β-alanine. B: •- potassium-free solution containing ouabain (10^{-4} M), ◊- choline ester of ortho-C_3H_7O-benzoyl-β-alanine, ∇- choline esters of para-C_3H_7O-benzoyl-β-alanine.

Choline esters, which have butoxy- and iso-butoxy- radicals in ortho- and para-positions in benzoyl group, have different effect on active efflux of ^{22}Na ions from the cells (Fig. 3A,B). As it is seen from the figure in normal physiological solution the choline ester ortho-C_4H_9O-benzoyl-β-alanine has no significant effect on the rate of sodium ions efflux (A), whereas the choline ester of para-C_4H_9O- benzoyl-β-alanine inhibits ^{22}Na ions efflux from the cells. In conditions of Na-K pump inactivation (Fig. 3B) choline esters of ortho- and para- C_4H_9O- benzoyl-β-alanines increase the rate of sodium ions efflux, which is more expressed in the choline ester of ortho-derivative. The effect of ortho- and para $C_5H_{11}O$-benzoyl-β-alanines on the rate constant of ^{22}Na efflux from the cells in normal physiological (A) and potassium-free (B) solutions is shown in Figure 4. As it is seen from this Figure, these compounds do not have significant effect on the rate constant of sodium ions efflux from the cells in norm and in potassium-free solution.

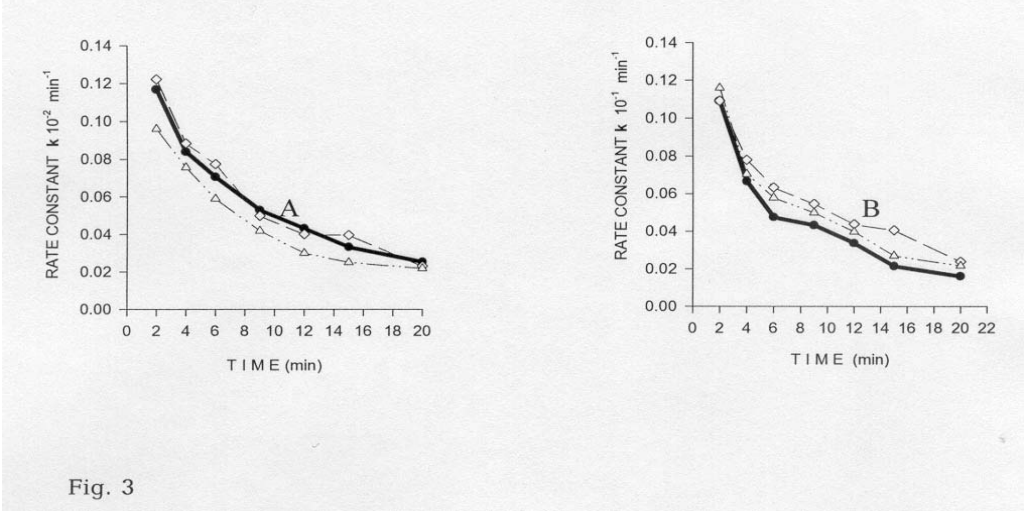


Figure 3. Effect of choline esters of ortho- and para-C_4H_9O-benzoyl-β-alanines on the rate constant of ^{22}Na efflux from the cells in normal physiological solution (A) and and in potassium-free solution (B). A:

• - normal physiological solution , ◊- choline esters of ortho- C_4H_9O-benzoyl-β-alanine, ▽- choline esters of para-C_4H_9O -benzoyl-β-alanine. B: •- potassium-free solution containing ouabain (10^{-4} M), ◊- choline ester of ortho-C_4H_9O-benzoyl-β-alanine, ▽- choline esters of para-C_4H_9O-benzoyl-β-alanine.

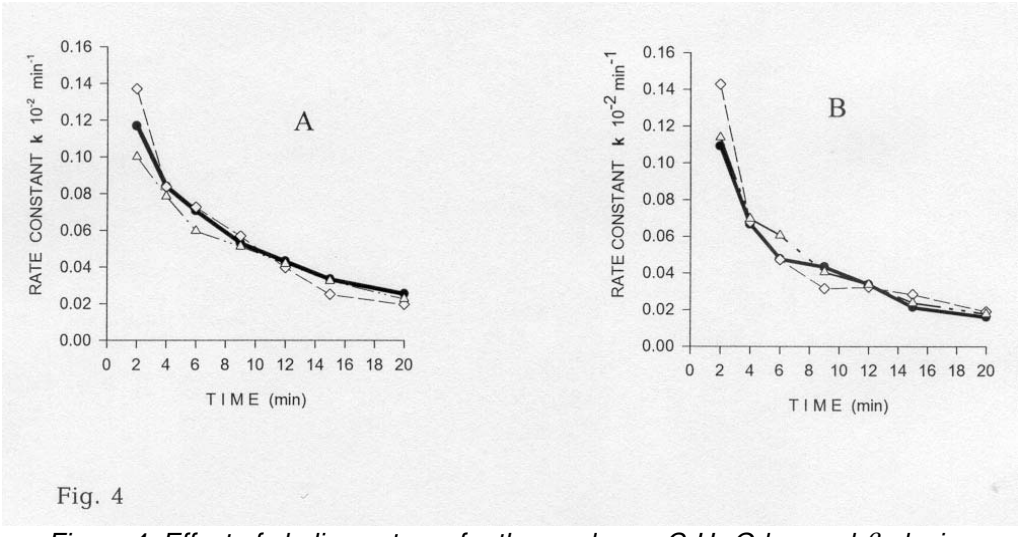


Fig. 4

Figure 4. Effect of choline esters of ortho- and para-$C_5H_{11}O$-benzoyl-β-alanines on the rate constant of ^{22}Na efflux from the cells in normal physiological solution (A) and in potassium-free solution (B). A:•- normal physiological solution , ◊- choline esters of ortho- $C_5H_{11}O$-benzoyl-β-alanine, ∇- choline esters of para-$C_5H_{11}O$ -benzoyl-β-alanine. B:•- potassium-free solution containing ouabain (10^{-4} M), ◊- choline ester of ortho-$C_5H_{11}O$-benzoyl-β-alanine, ∇- choline esters of para-$C_5H_{11}O$-benzoyl-β-alanine.

The obtained data show, that the change of the position of radicals in benzoyl group of choline esters of N-alkoxybenzoyl-β-alanines affects the effect of compounds on ^{22}Na ions efflux only in the norm: as a rule (but for some exceptions) compounds containing radicals in ortho- positions have no effect on sodium ions efflux, however, the replacement of radicals into para- position makes the compounds capable to inhibit ^{22}Na ions efflux. It is interesting to note that in conditions of Na-K pump inactivation and Na:Ca exchange activation this difference disappears: practically all compounds independent the arrangement of radicals in benzoyl group activate 22Na ions efflux.

Analysis of the groups on radicals in ortho- and para- positions of benzoyl group allowed to make the following conclusions. 1) The presence of CH_3O- radical in ortho- or para- position enables compounds to activate ^{22}Na efflux in norm, as well as in K-free solution, i. e. these compounds activate both Na-K pump and Na: Ca exchange (Fig. 1A, B). 2) Compounds, containing C_3H_7O- radicals in ortho- or para-positions inhibit Na-K pump (Fig. 2A) while activate Na: Ca exchange (Fig. 2B). It is interesting to note, that these very compounds were qualified in the previous work (in press) as N-cholinomimetics. The obtained data, however, confirm also the second conclusion concerning the possible mechanism of the effect of these compounds mediated by the inactivation of Na-K pump: the inactivation of Na-K pump caused by compounds could lead to the phosphorylation of A-type receptors, causing the loss of sensitivity of responses generated by mentioned compounds to the blockers of Na-K pump. 3) Effects of compounds containing C_4H_9O-radical in norm differ depending on the arrangement of the radical in ortho- and para positions: compounds, containing C_4H_9O-radical in ortho-position in norm have no effect on Na-K pump activity, while

the replacement of the radical in para- position leads to the inhibiting effect of the compound on Na-K pump (Fig. 3A). In conditions of Na-K pump inactivation both compounds activate Na:Ca exchange (Fig. 3B). Of note, that in the previous work choline ester of para-C_4H_9O-benzoyl-β-alanine was qualified by us as M-cholinomimetic and data presented here allow to suppose about the existence of the second possible mechanism of the effect mediated by the activation of Na-K pump. 4) And at last, compounds containing $C_5H_{11}O$- radical both in ortho- or para- positions do not practically affect the activity either of Na-K pump or Na-Ca exchange.

REFERENCES

1. Ayrapetyan SN, Suleymanyan MA, Saghyan AA and Dadalian SS. Autoregulation of electrogenic sodium pump. Cell. Mol. Neurobiol. 1984; 4: 367-383.
2. Bittar EE. Some aspects of sodium efflux single barnacle muscle fibres. Comp. Biochem. Physiol. 1983; 76A:763-776.
3. Grigorian KP, Azatyan KV, Kazaryan SH, Ayrapetyan SN. Ouabain-sensitive and insensitive acetylcholine receptors on the membrane of the same neuron in Helix pomatia. Comp. Biochem. Physiol. Part C128:511-520; 2001.
4. Kazaryan SH, Gerasimyan DA, Sogomonyan LG, Ter-Pogosyan RA and Mnjoyan OL. Choline esters N-para-butoxi- and iso-butoxibenzoyl-β-alanines having cholinomimetic and radiation protective activity. Patent:1012571; USSR, 1982.
5. Kazaryan SH, Shakhbazyan LV, Gerasimyan DH, Ayrapetyan SN and Mnjoyan OL. Choline esters N-para-Amyloxi- and iso-Amyloxi- benzoyl-β-alanines having cholinomimetic activity. Patent:1047133; USSR, 1983.
6. Saghyan AA. The ouabain-insencitive fraction of sodium efflux from Helix pomatia neurons. Biolog. Memb. 1991; 8:711-718. (Russian)

О механизмах действия структурных аналогов ацетилхолина на противоградиентный выход ^{22}Na из нейронов

Казарян С.А., Григорян К.П., Азатян К.В., Айрапетян С.Н.

Ключевые слова: ацетилхолин, структурные аналоги ацетилхолина, выход ^{22}Na, Na:Ca обмен.

Исследовано действие структурных аналогов ацетилхолина (АХ): холиновых эфиры орто- и пара-алкоксибензоил-β-аланинаё(CH_3O-, C_2H_5O-, C_3H_7O-, C_4H_9O-, iso-C_4H_9O-, iso- C_4H_9O-, $C_5H_{11}O$-, iso- $C_5H_{11}O$-) (всего 16 препаратов), обладающие холиномиметические свойстваё на оуабаин-чувствительный и оуабаин-нечувствительный активнй выход ионов ^{22}Na из нейронов Helix pomatia.

В нормальном физиологическом растворе действие холиновых эфиров орто- и пара-алкоксибензоил-β-аланинана на активный выход ионов ^{22}Na из клеток зависит от пространственного расположения функционально активных групп в бензольном кольце. При переходе от орто-алкокси производных к пара-алкокси производным эта активность уменьшается.

Все холиновые эфиры орто- и пара-алкоксибензоил-β-аланина сиимулируют оуабаин-нечувствительный активнй выход ионов ^{22}Na из нейронов.

Холиновые эфиры орто- и пара-CH_3O-бензоил-β-аланина увеличивают оуабаин-чувствительный и оуабаин-нечувствительный активнй выход ионов ^{22}Na из клеток.

Холиновые эфиры орто- и пара-C_3H_7O-бензоил-β-аланина подавляют оуабаин-чувствительный и активируют оуабаин-нечувствительный активнй выход ионов ^{22}Na из клеток.

Ացեթիլխոլինի ստրուկտուրային անալոգների ազդեցության մեխանիզմի ուսումնասիրությունը նեյրոններից ^{22}Na հակագրադիենտային ելքի վրա

Ղազարյան Ս.Հ., Գրիգորյան Կ.Պ., Ազատյան Կ.Վ., Հայրապետյան Ս.Ն.

Ուսումնասիրված են ացեթիլխոլինի (ԱԽ) ստրուկտուրային անալոգների N-օրթո- և N-պարա-ալկօքսի-բենզոիլ-β-ալանինի, խոլինոմիմեթիկ հատկությամբ օժտված, խոլինային էսթերների (CH_3O-, C_2H_5O-, C_3H_7O-, iso-C_3H_7O-, C_4H_9O-, iso-C_4H_9O-, iso-$C_5H_{11}O$-, iso-$C_5H_{11}O$-) (16 միացություններ), ազդեցությունը ^{22}Na ակտիվ ելքի վրա օուաբային-զգայուն և օուաբային-ոչ զգայուն Helix pomatia նեյրոններից: Նորմալ ֆիզիոլոգիական լուծույթում N-օրթո- և N-պարա-ալկօքսի-բենզոիլ-β-ալանինի խոլինային էսթերների ազդեցությունը ^{22}Na ակտիվ ելքի վրա կախված է բենզոիլ խմբում միացությունների ֆունկցիոնալ ակտիվ խմբի դիրքից: Օրթո-ալկոքսի- ածանցիալներից պարա-ալկօքսի- ածանցիալներին անցնելիս այդ ակտիվությունը փոքրանում է:

N-օրթո- և N-պարա-ալկօքսի-բենզոիլ-β-ալանինի բոլոր խոլինային էսթերները մեծացնում են օուաբային-ոչ զգայուն ^{22}Na ակտիվ ելքը բջջից:

Օրթո- և պարա-CH_3O-բենզոիլ-β-ալանինի խոլինային էսթերները մեծացնում են ^{22}Na ակտիվ ելքը օուաբային-զգայուն և օուաբային-ոչ զգայուն բջջից:

Օրթո- և պարա-C_3H_7O-բենզոիլ-β-ալանինի խոլինային էսթերները ճնշում են օուաբային-զգայուն և ակտիվացնում են օուաբային-ոչ զգայուն ^{22}Na ակտիվ ելքը բջջից:

УДК 577.152.199

УТИЛИЗАЦИЯ L-АРГИНИНА И СИНТЕЗ ОКСИДА АЗОТА В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ; ВЛИЯНИЕ ЛИТИЕВОЙ И НАТРИЕВОЙ СОЛЕЙ N^A-ПАРА-БУТОКСИБЕНЗОИЛ-L-АРГИНИНА

Л.А. Аракелян[1], С.А. Казарян[2], Н.Х. Алчуджян[1], Н.О. Мовсесян[1], И.С. Акопян[2], О. А. Мовсесян1, К.П. Григорян[2]

1. Институт биохимии им. Г.Х. Бунятяна, НАН РА, 375014 Ереван, ул. П. Севака 5/1
2. Институт тонкой органической химии им. А.Л. Мнджояна, НАН РА)

Ключевые слова: аргинин, аналоги аргинина, лейкоциты, нитрозосоединения, окислы азота, спленоциты, синтаза оксида азота, тимоциты

Key words: arginine, arginine analogues, blood, leucocytes, nirosocompounds, nitric oxide, nitric oxide synthase, splenocytes, thymocytes

Эндогенная конверсия L-аргинина в оксид азота (NO) катализируется NO синтазой (NOS), представленной в тканях человека и млекопитающих нескольким изоформами, наиболее изученными из которых являются Ca^{2+}/кальмодулин (CaM)-зависимые “конститутивные” изоформы NOS (нейрональная, nNOS, и эндотелиальная, eNOS) и Ca^{2+}/CaM-независимая “индуцибельная” NOS (iNOS), их селективное ингибирование используется в практической медицине в целях избирательной фармакокоррекции при сердечно-сосудистой и прочих патологиях, [1, 2]. Система NOS/NO функционирует в иммунокомпетентных клетках (ИКК), индуцируется в ответ на продукцию провоспалительных цитокинов и участвует в воспалительной реакции организма, вовлекаясь в процессы эрадикации патогенов и апоптической гибели клеток-мишеней [3, 4]. При этом iNOS, будучи одним из эффекторов клеточного иммунитета, активируется при аутоиммунных болезнях, хронических инфекциях (дыхательных, мочевыводящих путей), малярии, некоторых экстремальных состояниях организма и способна продуцировать NO в течение нескольких дней, обеспечивая высокий уровень последнего [5].

Исследование активности iNOS в ИКК крови и лимфоидных органов и возможностей ее регуляции в норме и различных патологических состояниях открывает новые возможности для диагностики и терапии различных заболеваний. В этом смысле особый интерес представляют аналоги природных аминокислот, которые часто используются в терапевтических целях, благодаря их малотоксичности и быстрого естественного включения в обменные пути. Известно, что производные L-аргинина, подобно L-аргинину, проявляют регуляторные свойства в отношение iNOS: они влияют на состояние гемового железа в ферменте, окисление NADPH, ассоциацию неактивных мономеров iNOS в активные димеры, при этом из 22-х тестированных аналогов L-аргинина лишь гомоаргинин и N^G-гидрокси-L-аргинин служат субстратом для NOS [6]. Согласно литературным источникам, основная α-амино- и кислая карбоксильная группы L-аргинина имеют

значение для субстратной специфичности, обеспечивая, в частности, стерический эффект при связывании с NOS [7]. Исходя из этого, были синтезированы производные L-аргинина, в которых α-аминогруппа L-аргинина блокирована устойчивой в кислой среде парабуоксибезоильной защитной группой, а α-карбоксильная группа N^{α}-пара-бутоксибензоил-L-аргинина (NPBA) защищена ионами лития или натрия, отличающимися своей липофильностью и биоактивностью [8]. Литий индуцирует глутатматэргический NO-проводимый ответ в мозге крыс; систематическое введение хлористого лития стимулирует активность iNOS в гиппокампе крыс [9,10]. Ранее нами было показано, что литиевые соли аминокислот обладают антиоксидантными свойствами, улучшают микроциркуляцию мозга и проявляют высокую антиаритмическую и кардиотоническую активность [11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на нелинейных самцах белых крыс массой 50-90г (возраст 3-5 недель). Животные были разделены на три группы: интактные крысы и крысы, получившие разовую внутрибрюшинную инъекцию литиевой или натриевой солей NPBA (LiNPBA и NaNPBAё соответственно) 10^{-5}моль / 100 г массы животного. Препараты вводили в растворенном виде при pH 7,4. Через 2 часа после инъекции крыс декапитировали под легким эфирным наркозом, и кровь, тимус и селезенку забирали для дальнейшей обработки. В каждом отдельном опыте использовался объединенный биоматериал двух крыс из каждой группы.

ВЫДЕЛЕНИЕ ИКК КРОВИ И ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ

Из крови, стабилизированной антикоагулянтом (5% раствор Na_2-EDTA), 6% декстраном (М.в. 70000) осаждали эритроциты в течение 1ч. при 37°С. Полученную взвесь лейкоцитов разводили в 20 мМ HEPES буфере, pH 7,2 (в соотношении 1:1), наслаивали на разделящую смесь фикол-верографина и выделяли ИКК с учетом видовых различий их плотностей у крыс - 1,129 и 1,087 г/см^3 [12]. Выделение ИКК крови и лимфоидных органов осуществляли в двуступенчатом градиенте плотности фикол-верографина в режиме центрифугирования 3000 об/мин 30 мин. Клетки, отобранные из верхнего интерфазного кольца (мононуклеары) и нижнего (нейтрофилы), промывали в 20 мМ HEPES буфере, pH 7,2. Лимфоциты выделяли из мононуклеарной фракции после инкубации смеси клеток в течение часа при 37° С и селективной адгезии моноцитов на пластике. После отделения лимфоцитов моноциты смывали с плашек инкубацией в 0,02% EDTA в течение 15 мин, при 37°С. Тимус и селезенку промывали на льду охлажденным 20 мМ HEPES буфером, содержащим 1мМ EDTA, 2мМ дитиотреитол и 3 мМ $MgCL_2 | 6H_2O$, pH 6,88, измельчали ножницами и гомогенизировали вручную в том же буфере (в соотношении 1:10). Полученную взвесь оставляли на 30 мин. в ледяной бане, и после оседания клеточных агрегатов лимфоциты тимуса и селезенки выделяли из супернатанта центрифугированием в градиенте плотности.

Все ИКК промывались трижды в 20 мМ HEPES буфере, pH 7,2..

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ NO СИНТАЗЫ.

Суспензии ИКК лимфоидных органов и крови (10^6 клеток·мл$^{-1}$) инкубировали в течение 24 ч в реакционной смеси (конечный объем - 1,5 мл): 20 мМ HEPES буфер, pH 7,4, содержащий 2мМ дитиотреитол, 1 мМ EDTA, 3 мМ $MgCL_2 | 6H_2O$; кофакторы NOS: 1,2 мМ NADPH, 50 мкМ (6R)-5,6,7,8-тетрагидробиоптерина, 5 мкМ FAD, 5 мкМ FMN, и

субстрат - 7,5 мМ L-аргинина. В пробы для определения зависимости активности NOS от кальция вводили1,25 мМ $CaCL_2$. Активность NOS определяли по L-аргинин-зависимой продукции окислов азота (ОА) и связанных НС (нитрозотиолы и нитрозамины) в процессе долговременной инкубации ИКК и выражали в нмоль нитрит-анионов· 10^{-6} клеток· 24 $ч^{-1}$.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКИСЛОВ АЗОТА И НИТРОЗОСОЕДИНЕНИЙ

В супернатантах проб, в которых были предварительно осаждены белки 0,5N NaOH и 10% $ZnSO_4$, определяли концентрацию ОА (NO, NO_2^-, NO_3^-, N_2O_4, N_2O_3) и НС неспецифической реакцией диазотирования реактивом Грисса-Илосвая спектрофотометрическим методом при длине волны – 546 нм. и выражали в нмоль нитрит-анионов· 10^{-6} клеток [13].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ L-АРГИНИНА И L-ЦИТРУЛЛИНА

Содержание L-аргинина определяли в щелочных безбелковых экстрактах соответствующих проб модифицированным методом Akamatsy S., Watanabe T.J. [14]. Экстракты смешивали с раствором, содержащим в равном соотношении (1:1:1) 0,02% 8-оксихинолин, приготовленный в 96% этиловом спирте; 2,5% сульфосалицилат натрия в 0,01М глициновом буфере и 2,5% NaOH, после чего добавляли 1% гипобромита натрия, тщательно перемешивали и через 15 мин определяли концентрацию L-аргинина спектрофотометрически, при длине волны 525 нм.

Количественный анализ L-цитруллина проводили тест-набором Био-Ла-тест (La Chema, Чехия).

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Статистическая значимость данных и сравнение групповых различий оценивалась по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Замещение основной α-аминогруппы и кислой α-карбоксильной группы в аргинине приводит к значительному стерическому и химическому ограничению возможностей молекулярного связывания NOS с субстратом [7]. В то же время производные аргинина могут влиять на эндогенный L-аргининзависимый синтез NO не только непосредственно, воздействуя на активность NOS, но и опосредованно, модулируя поглощение, рециклизацию и деградацию аргинина, от которых зависит продукция NO [15]. Полученные нами результаты в отношение влияния *in vivo* вновь синтезированного аналога аргинина, NPBA и его литиевой и натриевой солей, на активность NOS ИКК крови и тимуса и селезенки в основном подтверждают эти сообщения (рис. 1). Отметим, что в процессе NO-синтазной реакции наряду с NO в небольших количествах образуются гидроксиламин, закись азота, ион нитрозония, нитрозотиолы[16], которые определяются реакцией Грисса, так же как и стабильные продукты окисления NO, нитраты, нитриты и прочие ОА и связанные НС. Как видно из рис. 1, уровень ОА и НС превалирует в моноцитах и нейтрофилах, что указывает на активное функционирование в них NOS, в отличие от лимфоцитов крови и лимфоидных органов, в которых их концентрация значительно ниже.

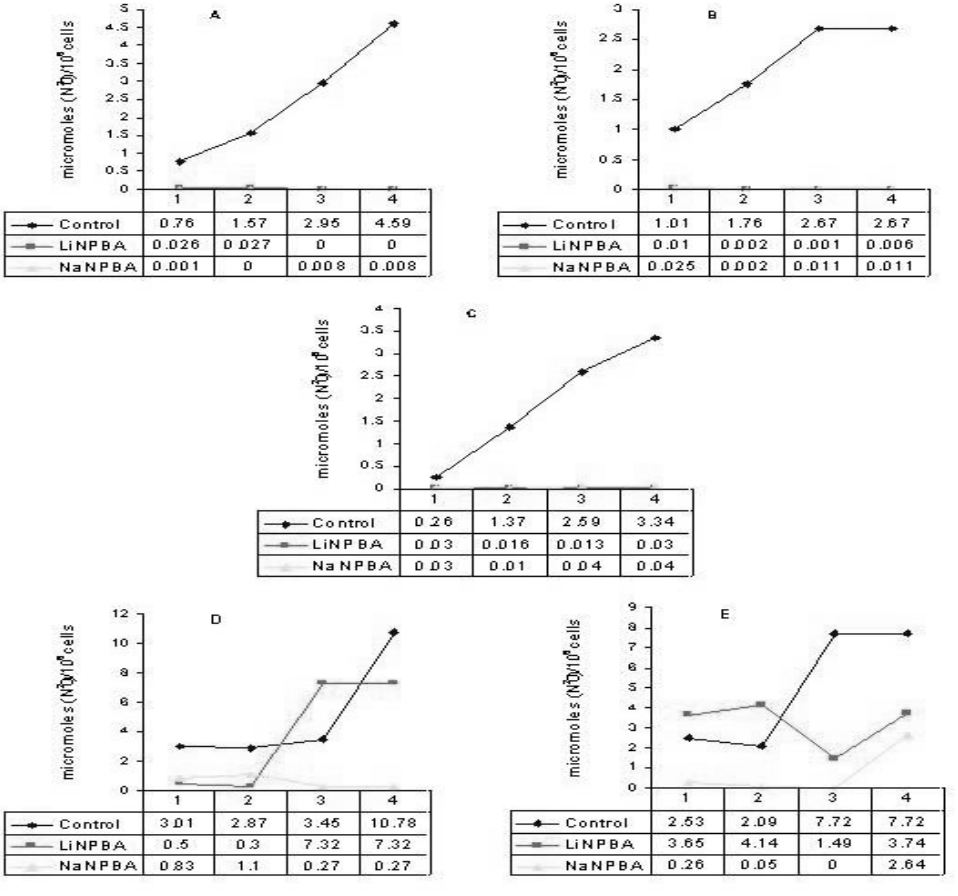


Рис. 1. Влияние *in vivo* натриевой и литиевой солей N$^{\omega}$-пара-бутоксибензоил-L-аргинина на уровень и продукцию **О**А и НС в тимоцитах (А), спленоцитах (В) лимфоцитах (С), моноцитах (D) и нейтрофилах (Е) крови крыс при их долговременной инкубации *in vitro* (24 ч). По оси абсцисс: 1- исходный уровень **О**А и НС; 2 - уровень **О**А и НС после инкубации в 20 мМ HEPES буфере pH 7,05, содержащем 2мМ дитиотреитол, 3 мМ $MgCl_2$, х б H_2O; 3 - уровень **О**А и НС после инкубации с L-аргинином и кофакторами NOS; 4 - уровень **О**А и НС после инкубации с L-аргинином, кофакторами NOS и 1 мМ $CaCl_2$; (n=6; $P< 0.01$).

Подобная картина прослеживается и при инкубации ИКК в присутствии аргинина и кофакторов NOS. В то же время инкубация ИКК в течение 24 ч в отсутствии субстрата и кофакторов NOS приводит к повышению содержания ОА и НС в лимфоцитах крови и лимфоидных органов, по-видимому, за счет эндогенных рессурсов, в то время как в моноцитах и нейтрофилах крови снижается, несмотря на то, что уровень аргинина в них выше (рис. 2). По всей вероятности, в моноцитах и особенно в нейтрофилах имеет место гораздо более активная продукция активных форм кислорода (АФК), с которыми взамиодействует продуцируемый NO. Так, NO вступает в реакцию с супероксидным радикалом, образуя пероксинитрит ($ONOO^-$) (скорость образования 6,7 х 10^9 $м^{-1}с^{-1}$), который не определяется

реактивом Грисса, используемым в наших экспериментах для количественного анализа ОА и НС. Так, в ЛПС-активированных гранулоцитах, моноцитах и лимфоцитах периферической крови человека при их долговременной инкубации (4-24 ч) концентрация NO снижается вследствие образования пероксинитрита [17]. Показано, что нейтрофилы человека в течение 24 ч конвертируют в пероксинитрит 3 мкмоль экзогенного NO [18].

Инкубирование ИКК в присутствии CaCL осуществлялось, с одной стороны, в целях стабилизации iNOS, с другой – для выявления активности Ca^{2+}/CaM-зависимых изоформ NOS. Кальций, как известно, обеспечивает прочное связывание CaM с оксигеназным доменом фермента, iNOS, благодаря более прочной связи с CaM, в меньшей степени зависит от кальция, который прежде всего необходим для Ca^{2+}/CaM-зависимых изоформ NOS [19]. В используемой реакционной смеси кальций не оказывает влияния на активность NOS нейтрофилов и спленоцитов, но повышает ее в моноцитах более чем в три раза, что указывает на возможное наличие Ca^{2+}/CaM-зависимых изоформ NOS; в тимоцитах и лимфоцитах крови активность NOS возрастает под влиянием кальция – в 1,56 и 1,29 раза соответственно, что скорее связано со стабилизацией iNOS, чем активированием иных изоформ. Так, очищенная iNOS перитонеальных нейтрофилов крыс стимулировалась Ca^{2+} на 20-30% [20]. Одноразовые внутрибрюшинные инъекции (10^{-5}моль/100 г массы животного) литиевой или натриевой солей NPBA вызывали значительные изменения в уровне ОА и НС, коррелирующие со сдвигами в активности NOS, что указывает на то, что метаболический путь L-аргинин – NO вносит основной вклад в эндогенную продукцию ОА и НС в ИКК крови и лимфоидных органов, так же как и в ряде других органов крыс (мозг, почки, сердце, легкие, печень, ЖКТ) в нормальных условиях [21].

Отметим, что влияние *in vivo* производных L-аргинина зависит от поглощения их клетками, степени диссоциации в них защитной группы и ионов, а также от метаболизирования этих соединений такими ферментативными системами, наличествующими в ИКК, как аргиназа, аргининдекарбоксилаза, аргининспецифическая АДФ-рибозилтрансфераза. При этом они не только конкурируют за субстрат, но и могут вызывать ингибирование NOS. Так, агматин, синтезируемый аргинидекарбоксилазой, является неселективным ингибитором изоформ NOS; мочевина, образующаяся из аргинина при расщеплении его аргиназой, препятствует самосборке мономеров NOS в активный димер [22]. Примечательно, что в макрофагах мышей именно сборка димеров является лимитирующим фактором, и лишь 25% вновь синтезированной NOS представлено в активной форме [23]. Соли NPBA могут ингибировать аргининметаболизирующие ферменты, подобно N^G-замещенным аналогам аргинина, ингибирующим одновременно и NOS, и аргиназу печени крыс [24].

Так или иначе соли NPBA заметно подавляют активность NOS лимфоцитов: LiNPBA по ряду спленоциты<тимоциты<лимфоциты крови, а NaNPBA по ряду тимоциты< спленоциты <лимфоциты крови. В моноцитах крыс, обработанных солями NPBA, уровень ОА и НС ниже, чем в интактных клетках, но в присутствии аргинина и кофакторов NOS только NaNPBA снижал активность NOS, тогда как LiNPBA стимулировал ее, превышая более чем в два раза таковую в нормальных моноцитах.

Интересно, что в моноцитах обе соли NPBA нивелировали стимулирующее влияние кальция, а в нейтрофилах – противоположная картина, хотя и обе соли ингибируют активность NOS. Отметим, что снижение активности NOS влечет за собой снижение содержания N^G-гидроксиаргинина, первого интермедиата реакции NOS, который является эффективным ингибитором аргиназы [25].

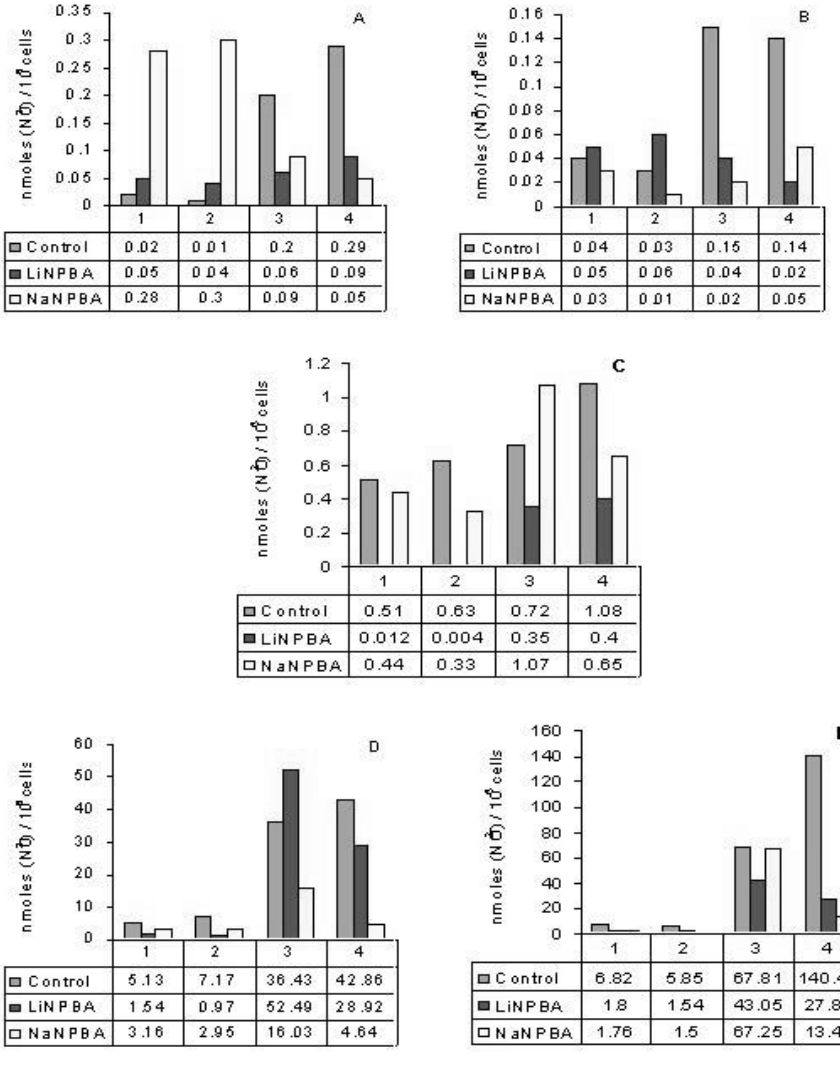


Рис. 2. Влияние *in vivo* натриевой и литиевой солей N$^{\omega}$-пара-бутоксибензоил-L-аргинина на уровень и утилизацию L-аргинина в тимоцитах (A), спленоцитах (B) лимфоцитах(C), моноцитах (D) и нейтрофилах (E) крови крыс при их долговременной инкубации *in vitro* (24 ч). По оси абсцисс: 1- исходный уровень L-аргинина; 2 - уровень L-аргинина после инкубации в 20 мМ HEPES буфере pH 7,05, содержащем 2мМ дитиотреитол, 3 мМ $MgCl_2$, и 6 H_2O; 3 - уровень L-аргинина после инкубации с введением в буфер 7, 5 мМ L-аргинина и кофакторов NOS; 4 - уровень L-аргинина после инкубации с введением в буфер L-аргинина, кофакторов NOS и 1 мМ $CaCl_2$; (n=6; P< 0.01).

Изучение уровня L-аргинина в ИКК и его утилизации при долговременной инкубации ИКК интактных контрольных крыс и крыс, обработанных LiNPBA или NaNPBA, показало, что эти параметры в основном коррелируют с биохимическим паттерном активности NOS ИКК (рис. 2). Концентрация аргинина в моноцитах и нейтрофилах крови была значительно выше таковой в лимфоцитах крови и лимфоидных органов, подобно распределению уровня ОА и НС и активности NOS в этих клетках. В 3 и 4 колонках представлены количества аргинина, утилизируемого ИКК при их долговременной инкубации в присутствии 7,5 мМ аргинина, и тут эти параметры доминируют в моноцитах и нейтрофилах, подтверждая их функциональное назначение. Соли NPBA ингибируют продукцию ОА и НС в ИКК и соответственно снижают утилизацию ими аргинина. В то же время уровень аргинина в тимоцитах крысё обработанных солями NPBA и LiNPBA-спленоцитах был выше, чем у контрольных, что, может быть связано с диссоциацией производных аргинина в них, тогда как в ИКК крови крыс, получивших инъекции солей NPBA уровень аргинина снижен по сравнению с нормой. Вероятно, повышение концентрации солей NPBA в крови влияет на поглощение аргинина ИКК крови. В некоторых случаях возрастание содержания ОА и НС в ИКК не сопровождается снижением концентрации аргинина в них. Так, повышение уровня аргинина наблюдалось в лимфоцитах и моноцитах контрольных крыс и небольшой подъем в тимоцитах NaNPBA-обработанных крыс и спленоцитах LiNPBA-обработанных крыс. Не исключено, что в этих клетках потребление аргинина ниже интенсивности рециклизации цитруллина в аргинин такими ферментами аргининосукцинатсинтетазой и аргининосукцинатлиазой, которые функционируют во всех типах клеток, в том числе в макрофагах крыс и мышей и часто восполняют недостаток экзогенного аргинина [15]. Интересно, что кальций в ИКК NPBA обработанных крыс оказывал в основном прямо противоположное действие на уровень аргинина в них по сравнению с контрольными ИКК, за исключением, что примечательно, лимфоцитов крови, тимуса и селезенки LiNPBA-обработанных крыс. Следует отметить, что влияние *in vitro* ионов кальция на активность NOS ИКК и утилизацию аргинина при обработке солями NPBA сложно интерпретировать, вследствие необходимости учета одновременного воздействия ряда факторов - это сдвиги в уровне, поглощении и утилизации аргинина, задействованность различных взаимовлияющих ферментативных систем и требует дополнительных исследований.

Таким образом, изучение уровня L-аргинина и его утилизации в ИКК крови, центрального лимфоидного органа - тимуса и периферического — селезенки, показало, что метаболический путь L-аргинин — NO вносит основной вклад в эндогенную продукцию ОА и НС синтазой оксида азота в нормальных условиях. Литиевая и натриевая соли вновь синтезированного аналога аргинина, N^{α}-пара-бутоксибензоил-L-аргинина в условиях *in vivo* вызывают ингибирование NOS в ИКК крови и лимфоидных органов крыс, за исключением NOS моноцитовё активируемой LiNPBAё влияют на поглощение и утилизацию L-аргинина этими клетками и могут быть использованы в качестве ингибиторов NOS.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kahn D.A., Archer D.C., Gold D.P., Kelly C.J. Adjuvant immunotherapy is dependent on inducible nitric oxide synthase. // J. Exp. Med., 2001, V. 193, P. 1261-1268.
2. Shi F.D., Flodstrom M., Kim S.H. Control of the autoimmune response by type 2 nitric oxide synthase. // J. Immunol., 2001, V. 167, p. 3000-3006.
3. Esh T., Stefano G.B., Fricchione G.L., Benson H. Stress-related diseases – potential role for nitric oxide. // Med. Sci. Monit., 2002, V. 8, N 6, P. 103-118.
4. Burgner D., Rockett K., Kwiatkowski D. Nitric oxide and infectious diseases. //Arch. Dis. Child., 1999, V. 81, p. 185–188.
5. Kronke Kroencke K.D., Fehsel K., Kolb-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase in human diseases. // Clin.Exp.Immunol., 1998, V. 113, N 2, P. 147-156.
6. Sennequier N., Stuehr D.J. Analysis of substrate-induced electronic, catalytic and structural changes in inducible nitric oxide synthase. // Biochemistry, 1996, V. 35, N 18, P. 5883-5892.
7. Hrabak A., Bajor T., Temesi A. Comparison of substrate and inhibitor specificity of arginase and nitric oxide synthase for arginine analogues and related compounds in murine and rat macrophages. // Biochem. Biophys. Res. Commun., 1994, V. 198, N 1, P. 206-212.
8. Барсегян К.А. Синтез новых производных L-аргинина и их влияние на активность NO синтазы иммунокомпетентных клеток крыс при экспериментальном синдроме длительного раздавливания. // Автореферат дисс. ... канд. биол. наук: Ереванё 2004¸ Ñ. 26.
9. Harvey B.H., Carstens M.E., Jaljaard J.F. Evidence that lithium induces a glutamatergic NO-mediated response in rat brain. // Neurochem. Res., 1994, V. 19, N 4, P. 469-474.
10. Bagetta G. – Systemic administration of $LiCl_2$ and tacrine increases nitric oxide synthase activity in the hippocampus of rats. // Eur. J Pharmacol., 1993, V. 237, N 1, P. 61-65.
11. Казарян С.А., Григорян К.П., Айрапетян С.Н., Львов М.В., Матевосян Л.А., Мнджоян О.Л. Синтез и фармакологические свойства некоторых литиевых солей N-защищенных аминокислот. // Хим. Фарм. Ж., 1996, Т. 30, N 3, С. 34-36.
12. Фрик Г., Прейснер З.С., Иенсен Г.Л., Бурмейстер Ю. В кн.: Иммунологические методы. (под ред. Х.Фримеля) // 1979, М: Мир, с. 372.
13. Tracey W.R., Linden J., Peach M.J., Johns R.A. Comparison of spectrophotometric and biological assays for nitric oxide and endothelium-derived relaxing factor: non-specificity of the diazotization reaction for NO and failure to detect EDRF. // J. Farm. Exp. Ther., 1989, V. 252, N 3, P. 922-928.
14. Akamatsy S., Watanabe T.J. L-arginine determination in biological liquids. // J.Biochem. 1961, V. 77, N 3, p. 484.
15. Mori M., Gotoh T. Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes. // Biochem. Biophys. Res. Commun., 2000, V. 275, N 3, p. 715-719.
16. Schmidt H.H.W., Hoffman H., Schindler U., Shutenko Z.S. Production of nitogene derivatives by nitric oxide synthase. // Proc. Nutl. Acad. Sci. USA, 1996, V. 93, P. 14492-14497.

17. Gagnon C., Leblond F.A., Filep J.G. Peroxynitrite production by human neutrophils, monocytes, lymphocytes challenged by lipopolysaccharide. // FEBS Lett., 1998, V. 431, N 1, P. 107-110.
18. McBride A., Brown G.C. Activated human neutrophils rapidly break down nitric oxide. // FEBS Lett., 1997, V. 417, N 2, p. 231-234.
19. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. // Biochem J., 2001, V. 357, N 3, P. 593-615.
20. Yui Y., Hattori R., Kosuga K., Eizawa H., Hiki K., Ohkawa S. Calmodulin-independent nitric oxide synthase from rat polymorphonuclear neutrophils. // J. Biol. Chem., 1991, V. 266, P. 3369-3371.
21. Tuncel M., Dogrucol-Ak D., Erkassap N. (2001) Modified method for capillary electrophoresis to determine nitric oxide correlated nitrate in tissue homogenates. // Nitric Oxide: Basic Research and Clinical Applications (R.J. Gryglewsky and P. Minuz, eds.), IOS press, Amsterdam, Berlin, Oxford, Tokyo, Washington, DC, **317**, P. 217-220.
22. Moeslinger T., Friedl R., Volf I., Brunner M., Baran H., Koller E., Spieckermann P.G. Urea induces macrophages proliferation by inhibition of inducible nitric oxide synthesis. // Kidney Int., 1999, V. 56, N 2, p. 581-588.
23. Albacri Q.A., Stuehr D.J. - Intracellular assembly of iNOS is limited by NO-mediated changes in hem insertion and availability. // J.Biol.Chem., 1996, V. 271, N 10, P. 5414-5421.
24. Robertson C.A., Green B. G., Harrison R.K., Grant S.K. – Effect of NOS-subsrtate analog inhibitors on rat liver arginase. // Biochem. Biophys. Res. Commun., 1993, V. 197, N 2, P. 523-528.
25. Daghigh F., Fukuto J.M., Ash D.E. - Inhibition of rat liver arginase by an intermediate in NO biosynthesis, N^G-hydroxy-L-arginine: implications for the regulation of nitric oxide biosynthesis by arginase. // Biochem. Biophys. Res. Commun., 1994, V. 202, N 1, P. 174-180.

L-Arginine utilization and nitric oxide synthesis by immunocompetent cells; the effect of N^{α}-para-butoxybenzoyl- L-arginine litium and sodium salts

L.A. Arakelyan[1], S.H.Ghazaryan[2], N.Kh. Alchujyan[1], N.H. Movsesyan[1], I.S. Hakobyan[2], H.A. Movsesyan[1], K.P. Grigoryan[2]

[1] H. Buniatian Institute of Biochemistry of National Academy of Sciences of RA

[2] A.Mnjoyan Institute of Fine Organic Chemistry of National Academy of Sciences Republic of RA, Yerevan, Armenia,

We have demonstrated that the L-arginine – NO pathway is responsible for the endogenous utilization of L-arginine, as well as the L-arginine-dependent production of nitric oxide (NO) and other nitrogen oxides and related nitrosocompounds in immunocompetent cells (ICC) of rat blood and lymphoid organs (thymus and spleen) under normal circumstances. Nitric oxide synthase (NOS) of ICC is inhibited by the treatment with the newly synthesized arginine analogues, lithium N^{α}-para-

butoxybenzoyl-L-argininate and sodium N^{α}-para-butoxybenzoyl-L-argininate with exception for the monocyte NOS of LiNPBA-treated rats. NPBA salts affect the uptake and utilization of L-arginine by ICC and may be used as ICC NOS inhibitors.

L-արգինինի յուրացումն ու ազոտ օքսիդի սինթեզը իմունակոմպետենտ բջիջներում; N^{α}-պարա-բուտոքսիբենզոիլ- L-արգինինի նատրիումի և լիթիումի աղերի ազդեցությունը

Լ.Ա. Առաքելյան[1], Ս.Հ. Ղազարյան[2], Ն.Խ. Ալչուջյան[1], Ն.Հ. Մովսեսյան[1], Ի.Ս. Հակոբյան[2], Հ.Ա. Մովսեսյան[1], Կ.Պ. Գրիգորյան[2]

[1]Հ. Բունիաթյանի անվ. կենսաքիմիայի ինստիտուտ ՀՀ ԳԱԱ,
[2]Ա.Մնջոյանի անվ. նուրբ օրգանական քիմիայի ինստիտուտ

Հայտնաբերվել է, որ L-արգինին - ազոտի օքսիդ (NO) նյութափոխանակության ուղին հիմնական դեր է խաղում L-արգինինի յուրացման և NOի և այլ ազոտի օքսիդների ու կապված նիտրոզամիացությունների արտադրման մեջ առնետի իմունակոմպետենտ բջիջներում (ԻԿԲ)՝ փայծաղի և ուրցագեղձի լիմֆոցիտներում, ինչպես նաև արյան լիմֆոցիտներում, նեյտրոֆիլներում և մոնոցիտներում: Պարզվել է, որ նորաստեղծ N^{α}-պարա-բուտոքսիբենզոիլ- L-արգինինի նատրիումի և լիթիումի աղերը արգելակում են ԻԿԲ NO սինթազի (NOS) ակտիվությունը և ազդում են այդ բջիջների L-արգինինի կլանման և յուրացման վրա:

УДК 577.11.616.61:547.915.7

МЕМБРАННЫЕ АСПЕКТЫ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ИОНИЗИРУЮЩЕМ ОБЛУЧЕНИИ

А.А. ПЕПАНЯН

Гематологический центр МЗ РА, Армения,
Медицинский институт им. Меграбяна, Армения

Ключевые слова: почки, ионизирующее облучение, мембрана, 5´-нуклеотидаза, Na/K-, Mg- и Ca-АТФазы, фосфолипиды.

Key words: kidney, ionizing irradiation, 5´-nucleotidase, membrane, Na/K-, Mg- and Ca-ATPases, phospholipids.

В последние годы резко повысилось внимание исследователей к нарушениям, возникающим в стабильных (в цитокинетическом отношении) высокодифференцированных тканях, не ответственных за непосредственный исход лучевого поражения. При этом изучается их роль как в процессах восстановления, так и в развитии отдаленных последствий облучения [1-4]. К числу таких тканей относится и почечная ткань.

Показано, что почка как полифункциональный орган, участвующий в обеспечении гомеостаза внутренней среды организма, кроветворении и обмене веществ, играет важную роль в развитии постлучевой реакции. Хорошо растворимые радиоактивные вещества из крови и тканевой жидкости достаточно быстро фильтруются в почках и выводятся из организма с мочой. При этом происходит облучение ткани почек с последующим развитием в ней перитубулярного некроза, повреждения сосудов, гиалинизации клубочков, что в итоге приводит к гипертензии и атрофии почек [5-9]. Между тем нефросклероз и артериолосклеротические повреждения играют важную роль в патогенезе опухолей почек [10].

Известно, что в выполнении основных функций почек важное значение имеет состояние мембранных структур почечных клеток. С другой стороны, мембранам на основании их многосторонних функциональных и регуляторных взаимосвязей с клеточным метаболизмом отводится роль одной из мишеней действия радиации на организм [11-15]. В связи с этим для выяснения возможных механизмов нарушения работы почек при лучевом воздействии, равно как и для обоснованного подхода к выбору фармакологических средств терапии, были исследованы мембранные аспекты поражения почечной ткани при данной патологии путем изучения особенностей изменения основных классов мембранных фосфолипидов (ФЛ) и активности некоторых мембраносвязанных ферментов (Na/K-, Mg- и Ca-АТФаз, 5´-нуклеотидазы).

Материал и методы исследования.

Исследование проводилось на белых крысах-самцах массой 140-160 г. Животные подвергались однократному общему облучению в дозе 3 Гр с помощью установки РУМ-17 при силе тока – 18 мА, напряжении – 187 кВ, мощности дозы – 0,26 Гр/мин и кожно-фокусном расстоянии – 60 см. Животных забивали на 10-й день после облучения (в разгар лучевой патологии). В исследованиях использовали микросомальные фракции клеток почечной ткани, полученные общепринятым методом дифференциального центрифугирования при 17 000 g.

Активность Na/K- и Ca-АТФаз определяли по разнице между общей и Mg-АТФазной активностями. При этом в случае Na/K-АТФазы измерение проводили в присутствии и отсутствии 0,1 мМ уабаина, а в случае Ca-АТФазы – в присутствии и отсутствии 0,1 мМ $CaCl_2$ [16]. Оценку 5´-нуклеотидазной активности осуществляли по методу Muszbek et al. [17]. Изменение АТФазной и 5´-нуклеотидазной активности регистрировали по приросту неорганического фосфора в инкубационной среде, а активности выражали в микромолях $Ф_н$/ч/мг белка. Содержание белка в пробах определяли по методу Lowry et al. [18].

Общие липиды экстрагировались из ацетоновых порошков почечной ткани в смеси растворителей метанол : хлороформ. Фракционирование ФЛ осуществляли методом одномерной тонкослойной хроматографии [19] в модификации Казаряна П.А. [20] на закрепленном слое силикагеля марки ЛС (Чехия). Для разделения использовали систему растворителей хлороформ – метанол – вода. В каждой фракции определяли содержание липидного фосфора [21], а количество ФЛ выражали в мг $Ф_н$/г ткани.

Цифровой материал подвергался статистической обработке с учетом критерия достоверности Фишера-Стъюдента [22].

Результаты и обсуждение.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о существенном изменении активности некоторых мембраносвязанных ферментов в почечной ткани при радиационном воздействии (рис. 1). Так, показано заметное (на 48,5 %) повышение общей АТФазной активности на 10-й день облучения. На этом фоне отмечается двукратное усиление деятельности Mg-АТФазы.

Согласно полученным данным (рис. 1), при облучении наблюдается статистически достоверное подавление активности Na/K- и Ca-АТФаз (на 59,2 % и 42,3 % соответственно), выступающих в роли ферментных эквивалентов Na-евого и Ca-евого насосов.

Установлено, что наиболее существенным изменениям подвергается активность 5´-нуклеотидазы: она увеличивается более чем в 2,5 раза по сравнению с нормой ($P<0,001$).

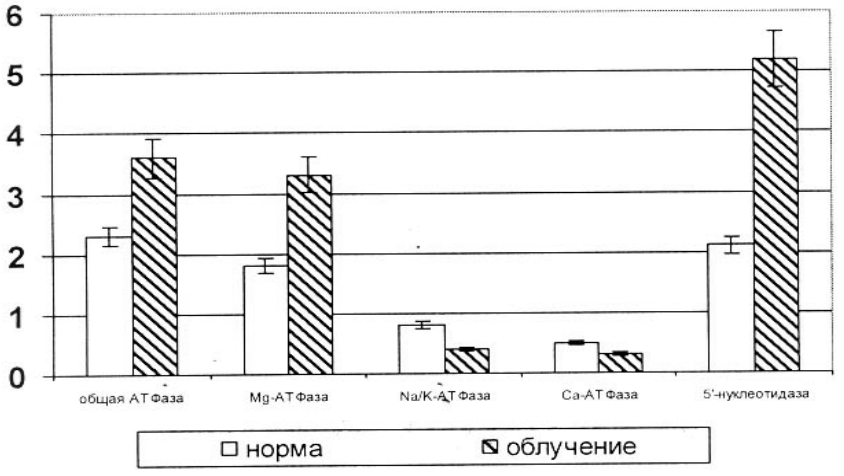


Рис.1. Изменение активности мембраносвязанных ферментов в почечной ткани при облучении (в микромолях $Ф_н$/мг белка).

Таблица 1

Абсолютное содержание индивидуальных и общих фосфолипидов почечной ткани при облучении (в мг $Ф_н$/г ткани)

Фосфолипиды	Норма	Облучение
Лизофосфатидилхолины	27,1 ± 1,2	49,2 ± 1,8 ***
Фосфоинозитиды	45,8 ± 1,2	64,4 ± 1,7 **
Сфингомиелины	102,3 ± 8,5	97,6 ± 3,6
Фосфатидилхолины	337,1 ± 10,0	92,0 ± 4,0 ***
Фосфатидилэтаноламины	209,5 ± 13,1	224,3 ± 5,1
Фосфатидилсерины	41,4 ± 1,7	124,0 ± 3,5 ***
Фосфатидные кислоты	12,1 ± 0,7	92,4 ± 3,9 ***
Дифосфатидилглицерины	15,3 ± 0,5	74,9 ± 5,7 ***
Суммарные фосфолипиды	726,9 ± 28,9	881,9 ± 18,4 *

Примечание: * - p < 0,05; ** - p < 0,01; * - p < 0,001; без обозначений – данные статистически не достоверны.**

Выраженные изменения регистрируются и в фосфолипидном спектре почечных клеток облученных крыс (табл. 1). Так, 10-й день радиационного поражения характеризуется увеличением общего пула ФЛ, преимущественно за счет резкого повышения уровней фосфатидных кислот (ФК) (в 7,6 раз), дифосфатидилглицеринов (ДФГ) (в 4,9 раз) и фосфатидилсеринов (ФС) (в 3 раза) по сравнению с контролем. Одновременно наблюдается заметное понижение доли фосфатидилхолинов (ФХ) на фоне увеличения концентрации лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) (в 1,8 раз по сравнению с контролем). В этих

условиях не отмечено статистически достоверных изменений в абсолютном содержании сфингомиелинов (СФМ) и фосфатидилэтаноламинов (ФЭ). Наблюдается лишь тенденция к увеличению уровня этих соединений.

Результаты проведенных исследований указывают на выраженное подавление активного транспорта ионов натрия, калия и кальция через мембрану почечных клеток при облучении. Как было показано в предыдущих работах [23], это в первую очередь связано с внутриклеточным дефицитом АТФ, ведь на активный транспорт ионов расходуется около 40 % последнего. Одним из механизмов нарушения активности АТФаз при облучении может явиться и окисление SH-групп ферментов, приводящее к изменению структуры активного центра [24]. Ввиду того, что Mg-АТФаза считается причастной к пассивным транспортным процессам, становится очевидным, что резкое повышение ее активности при облучении обусловливает нарушение сотношения активного и пассивного транспорта в почечных мембранах. В свою очередь накопление ионов кальция в цитоплазме (вследствие угнетения Ca-АТФазы) может служить стимулирующим фактором для активации перекисного окисления липидов и фосфолипаз на уровне мембранных структур клеток, способно модулировать проницаемость мембран, приводя к внутриклеточным потерям физиологически важных ионов калия.

Резкое возрастание активности 5´-нуклеотидазы в почечной ткани при радиационном воздействии, возможно, происходит в результате передислокации фермента в поверхностную мембрану. Согласно некоторым данным [25], увеличение активности 5´-нуклеотидазы сопровождает канцерогенез и старение клетки.

Одной из существенных причин пострадиационного нарушения активности ферментов является трансформация их липидного окружения [11, 26]. Известно, что физиологическая роль липидной фазы мембранных структур заключается в создании микроокружения, обеспечивающего конформационную стабильность мембраносвязанных белков-ферментов.

Резкое снижение уровня ФХ (превалирующих в почечной ткани) при облучении, сопровождающееся одновременным повышением доли ЛФХ, приводит к увеличению величины отношения ЛФХ/ФХ, указывая на активирование процессов деградации мембранных ФЛ-глицеролипидов. ЛФХ, жирные кислоты и продукты пероксидации, образующиеся в процессе деградации ФЛ, принимают участие в патологических механизмах ряда заболеваний, в том числе и нефрологических, вызывая главным образом нарушение проницаемости сосудистых стенок. Они могут осуществлять ингибирование окислительного фосфорилирования, подавление активности Na/K- и Ca-АТФаз, стимуляцию аденилатциклазы, усиление пассивного входа кальция в цитоплазму и другие метаболические нарушения.

В механизме уменьшения количества ФХ не исключается и возможность ингибирования его синтеза из ФК. Отмечающееся при этом значительное накопление ФК – промежуточных продуктов биосинтеза ФЛ, обусловленное, по-видимому, активацией фосфолипазы Д, может привести к нарушению структуры почечных мембран. ФК, как известно, являются природными ионофорами кальция и вместе с фосфоинозитидами (ФИ) играют существенную роль в мобилизации ионов кальция в клетке, что вызывает нарушение проницаемости и приводит к деструкции мембран.

Обращает к себе внимание достаточно высокое содержание ДФГ в патологически измененной почечной ткани, что, на наш взгляд, является компенсаторным и направлено на поддержание стабильности клеточных мембран за счет взаимодействия ДФГ с белковыми компонентами.

В результате качественных и количественных перестроек отдельных представителей мембранных фосфатидов-глицеридов обеспечивается определенная текучесть мембраны, изменение которой приводит к развитию конформационных нарушений мембранных протеинов. Вследствие этого наблюдаются существенные отклонения в активности как мембраносвязанных ферментов, так и рецепторных белков, утрачивающих свою эффективность в отношении раздражителей.

Таблица 2

Фосфолипид-фосфолипидные соотношения в почечной ткани при облучении

Фосфолипид-фосфолипидные соотношения	**Норма**	**Облучение**
Нейтральные ФЛ / кислые ФЛ	5,9 ± 0,8	1,30 ± 0,1**
Холинсодержащие ФЛ / аминсодержащие ФЛ	1,8 ± 0,2	0,5 ± 0,06*
Лизофосфатидилхолины / фосфатидилхолины	0,1 ± 0,02	0,5 ± 0,07**
Фосфатидилхолины / фосфатидные кислоты	27,9 ± 2,5	1,0 ± 0,2***
Фосфатидилэтаноламины / фосфатидилхолины	0,6 ± 0,08	2,4 ± 0,1***
Фосфатидилхолины / сфингомиелины	3,3 ± 0,1	0,9 ± 0,04**

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; без обозначений – данные статистически не достоверны.

Одним из показателей повышения микровязкости в условиях патологии считается увеличение соотношения ФЭ/ФХ [27]. По нашим данным, коэффициент этого соотношения в почечной ткани резко возрастает при лучевом поражении (табл. 2). Примечательно, что эти результаты коррелируют с полученными нами данными по уменьшению активности мембраносвязанных Na/K- и Ca-АТФаз. Возможно, повышение микровязкости приводит к устранению кооперативных взаимодействий между АТФ-связывающими центрами и предотвращает “сшивание” α-субъединиц исследуемых ферментов, что обуславливает отрицательную кооперативность по субстрату и приводит к снижению их активности.

Необходимо отметить, что несмотря на подавление активности Na/K-АТФазы, наблюдается заметное возрастание количества ФС (липидов-эффекторов Na/K-АТФазы). Как известно, для нормального функционирования Na/K- и Ca-АТФаз необходимы также стабильные концентрации ФХ и ФИ [28]. Регистрируемая в этих условиях относительно стабильная концентрация ФЭ позволяет предположить, что последние выступают в роли регулирующего, лимитирующего фактора в реакциях трансформации ФС $\leftrightarrow$ ФЭ $\leftrightarrow$ ФХ в обоих направлениях, что, по всей вероятности, не лишено определенного биологически оправданного значения в процессах регуляции функционального

состояния мембран в условиях радиационного поражения. Важно отметить, что ФЭ являются также реактивирующими липидами Mg-АТФазы, в свою очередь играющей немаловажную роль в регуляции проницаемости мембран.

Активность 5´-нуклеотидазы регулируется состоянием текучести наружной половины мембранного бислоя (СФМ/ФХ) [29]. Многократное повышение активности фермента в нашем эксперименте, несомненно, обусловлено повышением величины отношения СФМ/ФХ за счет резкого снижения уровня ФХ.

Примечательно, что содержание СФМ в нашем эксперименте не подвергается статистически достоверным изменениям. Вероятно, это обусловлено их относительно меньшей, чем у других ФЛ, степенью обмениваемости. СФМ в мембране играют важную роль в обеспечении гомеостаза холестерина, выступая в клетке в качестве его акцептора [30].

Заключение.

Таким образом, можно заключить, что ионизирующее облучение характеризуется нарушением деятельности мембраносвязанных ферментов и перераспределением качественного и количественного состава ФЛ мембран клеток почечной ткани. Наблюдающиеся при этом изменение липид-липидных и липид-белковых взаимоотношений сопровождаются существенными пертрубациями со стороны важнейших функций мембранных образований, включая транспортные и мессенджерные процессы, рецепцию эндогенных метаболически активных соединений, механизмы клеточных контактов и др. Это, в свою очередь, может явиться серьезной предпосылкой для нарушения функционального состояния почек при облучении, и, следовательно, всего организма в целом.

Литература

1. *Kholodova N.B., Kuznetsova G.D., Zubovskii G.A.* // Zh. Nevropatol. Psykhiatr. Imm. S.S.Korsakova, 1996, v.96, N5, p.29.
2. *Fu X.L., Huang H. et al.* // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 2001, p.1550.
3. *Soushkevitch M., Repacholi N.* // Protection of the human environment occupational and environmental health, Geneva, 2001, p. 277.
4. *Geraci I.P., Jackson K.L., Mariano M.S. et al.* // Rad. Res., 1990, v. 122, N 1, p. 95-100.
5. *Демин В.Б.* // Клеточно-тканевые механизмы адаптации к действию повреждающих факторов, Омск, 1990, с. 74-76.
6. *Law N.P., Ahier R.G., Coultas P.G.* // Brit. J. Cancer, 1986, v. 53, suppl. 7, p. 327-329.
7. *Williams M.V.* // Brit. J. Radiol., 1986, suppl. 19, p. 61-64.
8. *Prescott D.M., Hoopes P.J., Thrali D.E.* // Radiat. Res., 1990, v. 124, N 3, p. 317-325.
9. *Krochak R.J., Baker D.G.* // Urologia, 1986, v. 27, N 5, p. 389-396.
10. *Wheller G.P., Alexander I.O.* // Radiat. Res., 1993, Jul 135(1), p. 34.
11. *Бурлакова Е.Б., Шишкина Л.Р.* // Инф. Бюл. Научн. Совещ. АН СССР по пробл. Радиобиол., 1989, № 35, с. 11-12.
12. *Бездробный Ю.В.* // Мат. Всес. Конф. «Актуальн. пробл. рад. биол. и радиац. генетики», Обнинск, 1990, с. 19-21.

13. *Кожемякин Л.А., Краевой С.А.* // Военно-мед. журнал, 1993, № 4, с. 33-37.
14. *Haimovits-Friedman A., Kan C.C., Ehleiter D. et al.* // J. Exp. Med., 1994, v. 180, N 2, p. 525-535.
15. *Bulanova K.Ja., Gerasimivich N.N., Milyutin A.A. et al.* // Xth Int. Cong. Of Radiation Research, Wizzburg, Germany, Abstr., 1995, v. 1.
16. *Ratbun W.B., Betlach M.V.* // Analyt. Biochem., 1969, v. 28, N 1, p. 436-445.
17. *Muszbek L., Szabo T., Fesus L.* // Analyt. Biochem., 1977, v. 77, p. 286-288.
18. *Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al.* // J. Biol. Chem., 1951, v. 1952, v. 193, N 1, p. 265-270.
19. Хроматография в тонких слоях // Под ред. *Э.Шталя*, Москва, 1965, 508 с.
20. *Казарян П.А., Элоян Д.В.* // Москва: ЦОЛИУВ, 1982, 40 с.
21. *Светашев В.И.* // Автореф. дис. ... канд. хим. наук, Владивосток, 1973, 25 с.
22. *Першин Г.Н.* Методы в экспериментальной химиотерапии // Москва: Медицина, 1971, с. 379-382.
23. *Пепанян А.А., Казярян П.А., Аветисян А.А. и др.* // Нейрохимия, 2002, т. 19, с. 235-238.
24. *Дворецкий А.И., Айрапетян С.Н., Шаинская А.М., Чеботарев Е.Е.* Трансмембранный перенос ионов при действии ионизирующей радиации на организм // Киев: Наукова думка, 1990, 110 с.
25. *Нагиев Э.Р.* // Укр. Биохим. Журн., 1995, т. 119, № 6, с. 631-633.
26. *Рыскулова С.Т.* Радиационная биохимия плазматических мембран // Москва: Энергоатомиздат, 1986, 127 с.
27. *Karageuzyan K.G.* // Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy, 2005 Feb; 4(1): 85-98.
28. *Мелконян М.М., Карагезян К.Г.* // Вопр. мед. химии, 1989, т. 35, № 2, с. 65-68.
29. *Дагбашян С.С., Пепанян А.А., Казарян П.А. и др.* // Новое в гематологии и трансфузиологии, Киев, 2006, № 5, с. 165-169.
30. *Дятловицкая Э.В., Кандиба А.Г.* // Биохимия, 2006, т. 71, № 1, с. 17-26.

Երիկամների ախտահարման թաղանթային ասպեկտները իոնիզացնող ճառագայթահարման ժամանակ

Ա.Ա.Պեպանյան

Երիկամների ախտահարման թաղանթային ասպեկտների ուսումնասիրման նպատակով հետազոտվել են երիկամային բջիջների պլազմային թաղանթների ֆոսֆոլիպիդային սպեկտրը և որոշ թաղանթկախյալ ֆերմենտների (5Բ-նուկլեոտիդազայի, Na/K-, Mg- և Ca-ԱԷՖազաների) ակտիվությունը իոնիզացնող ճառագայթահարման ժամանակ: Հաստատված է 5Բ-նուկլեոտիդազայի և Mg-ԱԷՖազայի ակտիվության զգալի բարձրացում Na/K- և Ca-ԱԷՖազաների ակտիվության ճնշման ֆոնի վրա, ինչը պայմանավորված է թաղանթային կարևորագույն ֆոսֆոլիպիդների հարաբերակցությունների գործակիցների կտրուկ նվազումով, որն ուղեկցվում է բոլոր դասերի ֆոսֆատիդներ-գլիցերիդների քանակական և որակական կազմի նկատելի փոփոխությամբ:

Քննարկվում է նշված ցուցանիշների դերը երիկամի ախտահարման պաթոգենեզում իոնիզացնող ճառագայթահարման ժամանակ:

The membranous aspects of renal damage at ionizing irradiation

A.A.Pepanyan

For research of the membranous aspects of renal affection at ionizing irradiation the the activities of some membrane-bound enzymatic systems (5´-nucleotidase, Mg- and Ca-ATPase) and spectrum of phospholipids of renal cells plasmatic membranes have been studied. A significant increase in the activities of 5´-nucleotidase and Mg-ATPase on a background of reduction Na/K- and Ca-ATPases activities has been established in result of sharp decrease in coefficients of interactions of the most important membrane phospholipids with simultaneous essential alteration of the quantitative and qualitative contents of phosphatides-glycerides of all classes.

The role of the aforementioned indices in the pathogenesis of renal damage at ionizing irradiation is discussed.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОСТИМУЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ

Оганесян Н.М., Абрамян А.К., Оганесян А.Н., Погосян А.С., Асрян К.В., Мириджанян М.И., Петросян Ш.М., Карапетян А.Г.

Сектор радиационной медицины и ожогов ЦТООР МЗ РА, Центр, сотрудничающий с ВОЗ.

Ключевые слова: радиационная авария, ликвидаторы, медицинские последствия, заболеваемость, кластогенные факторы, антиоксиданты, биостимуляторы.

Key words: radiation exposure, rehabilitate individuals, liquidators, medicinal effects, clastogenic factors, antyoxidants, biostimulants

Лечение и реабилитация лиц с лучевыми поражениями остается одной из центральных проблем радиационной медицины. Особую актуальность эти вопросы получили в связи с аварией на Чернобыльской АЭС, в ликвидации которой приняли участие сотни тысяч людей, в том числе из Армении, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации (ИР) и нуждающихся в проведении лечебных и реабилитационных мероприятий (ликвидаторы – Л). С этой целью в наиболее пострадавших от аварии странах (Украина, Белоруссия, Россия) широкое применение получили различные биоактивные препараты, в частности антиоксиданты (АО).

Вопросы теоретического обоснования и практического применения АО в литературе хорошо разработаны. Известно (1,2,3,7,9,11,12 и др.), что ведущая роль в патогенезе радиационных поражений принадлежит ускорению процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ). Длительная генерация их приводит к понижению уровня АО и к истощению репаративных и компенсаторных систем организма. Антиоксидантные препараты (АОП) уже в малых концентрациях тормозят свободнорадикальные процессы окисления, усиливают репаративные процессы и, тем самым, уменьшают масштабы повреждения.

В связи с этим в Научном центре радиационной медицины и ожогов широкое применение при лечении и реабилитации лиц с лучевыми поражениями получили АОП и другие биоактивные вещества, в том числе кисломолочные продукты («Нарине»).

Клиническая характеристика ликвидаторов

Под наблюдением в Центре радиационной медицины и ожогов уже на протяжении 20 лет находятся 2200 ликвидаторов аварии на ЧАЭС. Большая часть ликвидаторов находилась на работах в зоне ЧАЭС в 1986г. – 51,2%, около 30% - в 1987г и менее 10% в 1988г., продолжительность работы составила в среднем 2-3 месяца. Доза облучения по официальным справочным данным в основном составила от 0 до 25 сГр, однако у части лиц она была значительно

выше. Наблюдение за ликвидаторами аварии проводится по 3-х этапной системе: диспансерный-стационарный-реабилитационный. На всех этапах ликвидаторы подвергались подробному клинико-лабораторному исследованию (ЭКГ , в том числе, с физической нагрузкой (велоэргометрия), реовазография, ЭЭГ, эндоскопические и ультразвуковые исследования внутренних органов, допплеровское изучение гемодинамики (ДГ), сперматологический анализ, изучение хромосомных аберраций (ХА) лимфоцитов и кластогенных факторов (КФ), а при необходимости - определение иммунологического и гормонального статусов, радиометрия тела и щитовидной железы).

Результаты и обсуждение

По результатам исследования установлено, что показатели здоровья ликвидаторов ухудшались в течение всего наблюдаемого периода, что в общем соответствует существующим литературным данным (4,5,6,8 и др.). Сравнительный анализ позволил выявить, что, с одной стороны, отмечался значительный рост патологических состояний, которые не типичны для радиационных поражений, а отражающих морфофункциональные расстройства полиэтиологической природы в защитных и регуляторных системах организма, с другой стороны, выявлено увеличение числа отдельных заболеваний, которые можно рассматривать как радиационно обусловленные.

Как показывает анализ наших исследований, у ликвидаторов Армении имело место постепенное нарастание заболеваний по следующим классам болезней: нервной (НС) и сердечно-сосудистой систем (ССС), желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), органов дыхания и других (таблица 1). Согласно данным диспансерного наблюдения патология ССС является ведущей и в настоящее время составляет – 82,0%, нервной системы – 68,0%, органов дыхания – 76%, органов пищеварения – 55%, мочеполовой системы – 21,0%, опорно-двигательного аппарата – 49%.

Таблица 1.

Заболеваемость по органам и системам	Г о д ы н а б л ю д е н и я				
	1987	1990	1995	2000	2005
Нервная система	32,0	60,4	78,0	84,6	68,0
Сердечно-сосудистая система	13,7	10,8	48,1	81,8	82,0
Органы дыхания	15,0	26,1	39,0	57,0	76,0
Органы пищеварения	16,3	30,8	27,4	59,4	55,0
Опорно-двигательная система	21,9	43,8	30,1	23,2	49,0
Мочеполовая система	2,5	4,1	6,3	10,1	21,0
Новообразования	0,1	0,2	1,3	2,5	3,0

Изучение иммунологического статуса ликвидаторов выявило иммунодефицит клеточного типа, увеличение 0-лимфоцитов, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, комплементарной активности сыворотки

крови и антиинфекционной резистентности, что проявлялось выраженными дисбиотическими явлениями в составе аутомикрофлоры кожи, полости рта и кишечника и способствовало развитию заболеваний, в патогенезе которых существенную роль играют иммунные механизмы. С незначительными колебаниями эти изменения сохранялись в течение всего срока наблюдения.

Результаты цитогенетического анализа лимфоцитов свидетельстуют о том, что процент хромосомных аберраций (ХА) ликвидаторов, постепенно нарастая, в 1994г. составил 10,16±0,22 ($P<0,001$) и с незначительными колебаниями сохранялся на этом уровне в течение всего срока наблюдения при контрольном уровне 1,23±0,27. С 1994г. выявляются также мультиаберрантные клетки. Исследования, проведенные в течение 2000-2005гг. свидетельствуют, что уровень ХА ликвидаторов существенно вырос. На этом фоне важное значение приобретают нарушения функции мужских гонад, которые выражались в увеличении тератологических форм сперматозоидов. Полученные данные указывают на некоторую зависимость сперматогенеза от цитогенетических изменений и, по-видимому, свидетельствуют о начале проявления мутагенного эффекта малых доз радиации.

Большой интерес представляют изменения кластогенных факторов (КФ) у ликвидаторов чернобыльской аварии. Как известно (10,11,12), КФ – это клеточные продукты, сформированные вследствие повышения процессов свободно-радикального ПОЛ. Они возникают в плазме крови, в частности, при воздействии на организм ИР, длительное время сохраняются в облученном организме и обнаруживаются даже через 30 лет в плазме крови лиц, выживших после атомной бомбардировки, тем самым, способствуют возникновению ХА и обуславливают кластогенный эффект. Предполагается, что КФ являются факторами риска развития отдаленных эффектов облучения (10,15). Возникновение различных заболеваний у ликвидаторов (не только онкологических) может быть связано с оксидативным стрессом. Поскольку ДНК - повреждающие эффекты КФ опосредуются свободными радикаллами, выделяющими кислород, в качестве превентивных средств рассматриваются антиоксиданты.

Исследования КФ у армянских ликвидаторов проведено совместно с группой, руководимой Emerit I. (13) в Парижском Университете им. Пьера и Марии Кюри. Средний уровень КФ у доноров составлял 0,8±1,0. На основании этих данных при истинной величине кластогенности (ИВК) в пределах от 0 до + 4 результат КФ – теста считали отрицательным, 7 или более – положительным (таблица 2).

Данные, полученные от ликвидаторов, показали корреляцию между дозой облучения и кластогенным числом (13). Различия между образцами плазмы от ликвидаторов, подвергнутых облучению в дозах менее 25 сГр и теми, которые подверглись облучению в более высоких дозах, были статистически достоверными ($p<0,05$). Более высокие значения КФ наблюдались также у тех ликвидаторов, которые находились в Чернобыле в 1986г., или в зараженных областях в течение длительного времени. Изучение уровня КФ в плазме ликвидаторов выявило их повышение в 2-5 раз даже через 8-10 лет после аварии (17,2±0,05 при контрольном уровне 3,0±0,32).

Лечение и реабилитация ликвидаторов включает комплекс мер, направленных на улучшение условий труда, отдыха, питания, исключение вредных привычек, психотравмирующих факторов, восстановление адаптационных возможностей организма, устранение нарушений функции

отдельных органов и систем, предупреждение и терапию осложнений, реабилитацию. Учитывая общие механизмы, лежащие в основе заболеваний ликвидаторов, важную роль в их лечении играет коррекция их психологического статуса, назначение препаратов со свойствами антиоксидантов.

Наши предварительные экспериментально-клинические исследования показали высокую эффективность АОП. Это касается и известных препаратов, апробированных в Центре (витамин Е, аскорутин, аэвит) и новых АОП.

В одном исследовании все обследованные ликвидаторы, у которых были выявлены отклонения ПОЛ, были подразделены на 3 группы по 30 человек в каждой: I группа получала табельный препарат – 10% токоферол ацетат в/м по 1 мл 1 раз в день, II группа получала аскорутин и III – аевит в средней дозировке в течение 20-25 дней (по 1 табл. 2-3 раза в день). После окончания курса лечения все исследования проводили повторно.

В результате применения АОП отмечалось улучшение общего самочувствия больных в 76% случаев, стабилизация давления и пульса в 55%, существенных изменений морфологических и функциональных показатешей крови не выявлено. Изучение ПОЛ показало, что под влиянием α-токоферола отмечалось четкое понижение уровня фонового и ферментативного ПОЛ в плазме крови и эритроцитарных мембранах, уменьшение показателей липидного обмена (общие липиды, холестерин, β- липопротеиды). У ликвидаторов, получавших аскорутин и аэвит вышеотмеченные изменения были менее выражены.

К числу новых АОП относится Танакан фирмы Ипсен (Франция), экстракт листьев Гинкго билобы, которые содержат супероксиды, флавониды и терпеноды. Он оказывает регулирующее влияние на 3 этажа сосудистого дерева: артерии, капилляры, вены и способен улучшать мозговую и периферическую гемоциркуляцию (14). Исследования проведены на группе ликвидаторов (50 чел.) которые получали препарат ежедневно в дозе 40мг 3 раза в течение 2-х месяцев. Полученные предварительные результаты показывают, что Танакан обладает выраженными АО-свойствами (нормализация содержания общих липидов, β- липопротеидов, фонового ПОЛ в плазме крови, НАДФ Н зависимого ПОЛ в эритроцитарных мембранах). Кластогенная активность плазмы ликвидаторов снижалась до нормальных значений уже при первом исследовании после окончания лечения, эффект лечения сохранялся по крайней мере 7 месяцев. У трети ликвидаторов отмечалось повторное повышение КФ после года, свидетельствуя о том, что КФ – продуцирующий процесс продолжается (таблица 2).

Таблица 2.

Наличие КФ в плазме крови ликвидаторов леченных антиоксидантами.

Препарат	Контроль	Ликвидаторы	
		до лечения	после лечения
Танакан	3,0±0,32	17,4±2,05	6,8±2,6 p<0.001
Лоштак	7,0±0,15	12,75±1,15	6,0±0,5 p<0.01
АОБ	0,80±0,55	7,5±4,5	2,0±0,21 p<0.001

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что Танакан обладает выраженным антикластогенными и антиоксидантными свойствами и его применение при лучевых повреждениях представляется оправданным, поскольку КФ являются факторами риска для развития отдаленных последствий облучения (10,16).

Нами также проведено изучение нового препарата растительного происхождения фирмы АОА (Япония, Кобе) - антиоксидантного биофактора (АОБ), который получают из растительного сырья (соевые бобы, рис пшеница, зеленые сорта чая, дрожжи и кунджут). Они содержат различные флавониды, небольшое количество микроэлементов и витаминов – антиоксидантов. КФ-тест проводили до и после курса лечения, АОБ назначали по 2 дозы 3 раза в день в течение 2-3 месяцев. Полученные результаты показывают, что АОБ также обладает выраженными антиоксидантными и антикластогенными свойствами. В течение 6,9 и 12 месяцев после лечения, у большинства ликвидаторов уровень КФ не достигал порога чувствительности метода. Пациенты отмечали улучшение общего состояния, повышение работоспособности. Под влиянием препарата у части больных при сонографическом исследовании отмечалось некоторое снижение напряжения сосудов печени, уменьшение ее размеров и тканевых изменений.

Параллельно с этими исследованиями было проведено также изучение препарата Лоштак (Brionia Alba) синтезированного в ИТОХ АН Армении. Широкие экспериментальные и клинические исследования, проведенные в различных медицинских центрах Армении и стран бывшего СССР, показали, что Лоштак, являясь неспецифическим биостимулятором растительного происхождения, обладает иммуностимулирующим, фибринолитическим и антисклеротическим действием и с успехом может применяться для профилактики и лечения лучевых поражений. Клиническая апробация препарата в нашем Центре показала, что под влиянием препарата в организме ликвидаторов (60 чел.) происходили существенные изменения целого ряда жизненноважных функций: повышение фибринолитической активности крови, уменьшение количества холестерина, статистически достоверное повышение фонового ПОЛ. Иммунологические сдвиги с нормализацией Т-клеточного иммунитета свидетельствуют о стимулирующем и коррегирующем эффекте Лоштака (до лечения – 39,4±2,3; после лечения – 45,1±2,5; в контроле – 49,5±1,6, $p<0,02$). Результаты цитогенетического анализа микроядер слизистой оболочки ротовой полости выявили снижение уровня клеток с микроядрами в группе лиц, прошедших курс лечения: до лечения – 0,33±0,0; после лечения - 0,25±0,04; в контроле – 0,3±0,01 ($p< 0,05$).

Среди других, разработанных в нашем Центре методов лечения ликвидаторов Чернобыльской аварии, интерес представляет использование различных биостимуляторов, которые играют существенную роль в повышении неспецифической защиты и иммунологической реактивности организма. Это особенно важно при инфекционных заболеваниях, в частности желудочно-кишечного тракта. Изменения микрофлоры кишечника при воздействии ИР носят вторичный характер. Однако развитие дисбактериоза кишечника в значительной степени оказывает влияние на течение основного заболевания и его исход. Исходя из вышеизложенного, восстановление микробного ценоза в кишечнике

является важным моментом в комплексном лечении лиц, подвергшихся воздействию ИР.

Для коррекции дисбактериоза кишечника у лиц, подвергшихся воздействию малых доз ИР, впервые нами использована культура Lactobacterium acidophilum, выделенная профессором Л.А. Ерзинкяном (авторское свидетельство №163573 от 27 апреля 1964г.). Проведенные исследования показали, что лечение дисбактериоза кишечника с использованием кисломолочного продукта «Нарине» и его леофилизированного препарата оказывало положительное влияние на течение заболеваний органов пищеварения и иммунологическое состояние организма. Для лечения ликвидаторов в Центре впервые были использованы и другие методы, в частности, лечебный плазмоферез, аутотрансфузии ультрафиолетом облученной крови (АУФОК) и другие, при применении которых отмечались положительные результаты.

Важным звеном лечения ликвидаторов является также реабилитационный этап, который осуществляется как в стационаре, так и в санаторно-климатических условиях. Реабилитационные мероприятия, проводимые у ликвидаторов (лечебная физкультура, массаж, климатолечение, психотерапия) на всем протяжении послеаварийного периода способствуют ускоренному выздоровлению пострадавших и возвращению их к нормальной трудовой жизни.

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение антиоксидантных и других биоактивных препаратов у лиц, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, оказывает благоприятное антиоксидантное действие и вызывает нормализацию кластогенных факторов.

Поскольку все изученные нами препараты в той или иной степени обладают антиоксидантными свойствами, их можно рекомендовать для лечения и коррекции ПОЛ больным, подвергшимся облучению в разных дозах, в зависимости от глубины поражения КФ, процессов ПОЛ и липидного обмена. Перспективным представляется применение АОП и других биопрепаратов у контингентов людей, находящихся на радиоактивно загрязненных территориях, и лиц, имеющих постоянный контакт с источниками ионизирующих излучений.

Литература

1. Бурлакова Е.Б. с соавторами. Биоантиокислители в норме и патологии. М., 1982, с.113-140
2. Бурлакова Е.Б. – Актуальные вопросы радиационной медицины. Мед.радиология. 1996, №23, с.72-77.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.Н. – перекисное окисление липидов в биологических мембранах. «Наука», М., 1972.
4. Иванов В.К., Цыб А.Ф. -Медицинские радиологические последствия Чернобыля для населения России: оценка радиационных рисков. Москва, Медицина, 2002.
5. Красникова Л.И. -Материалы 2-ой международной конференции «Отдаленные медицинские последствия Чернобыльской катастрофы». Киев, 1998, с.85-86.
6. Куликова Т.А. – Мат. международной конференции «Радиобиологические эффекты». Киев, 2005, с.86-87.

7. Новоженов В.Г., Лысенко А.С. и др. – Изменение ПОЛ и антиоксидантной системы у больных острой лучевой болезнью. Военно-медицинский журнал. 1993, №4, с.38-40.
8. Сушкевич Г.Н., Цыб А.Ф. – Медицинские последствия Чернобыльской аварии. Научный отчет АЙФЕКА. ВОЗ, Женева,1995.
9. Тарусов Б.Н. – К вопросу о первичных физико-химических механизмах радиационного поражения. Радиобиология. 1967, т.7, вып.5, с.670-677.
10. Emerit I., Oganesian N., Sarkisian T., Arutyunyan R., Pogossian A., Asrian K., Levy A., Cernjavsky L., Clastogenic factors as Biomarkers of Oxidative Stress after Radiation Exposure. Intern. Journal of Radiation Medicine. 1999, N2(2), p.25-33.
11. Emerit I., Levy A., Cernjavsky L., Arutyunyan R., Oganesian N., Pogosian A., Mejlumian H., Sarkisian T., Gulkandanian M., Quastel M., Goldsmith J., Riklis E., Kordysh R., Poliak S., Merklin L., Transferable clastogenic activity in plasma from persons exposed as salvage personnel of the Chernobyl reactor, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 120, 1994, p.558-561.
12. Emerit I., Oganesian N., Sarkisian T., Arutyunyan R., Pogossian A., Asrian K., Levy A., Cernjavsky L., Clastogenic factors in the plasma of Chernobyl accident recovery workers: anticlastogenic effect of Gingko biloba extract, Radiation Res. 144 ,1995, p.198- 205.
13. Emerit I., Oganesian N., Arutyunyan R., Pogossian A., Sarkisian T., Cernjavsky L., Levy A., Feingold J. Oxidative stress-related clastogenic factors in plasma from Chernobyl liquidators: protective effects of antioxidant plat phenols, vitamins and oligoelements, Elsevier, Paris, France, 1997, p.239-246.
14. DeFendis F.V., 1991- Цитировано по Emerit I., 1999.
15. Faguet G.G. et al – Radiation – incluced clastogenic plasma factors Cancer Genet. Cytogenet., 1984, v.12, p.73-83.
16. Oganesian N., Ogandjaria E, Melikian J., Malikojan S.,Tirojan G., Asrian K., Abramian A., Batikian Y. Study of the health consequences observed in liquidators of the Chernobyl reactor accident. Med. Radiol., 1991, v.10, p.33-36

Բիոխթանիչ դեղամիջոցների կիրառումը ճառագայթահարվածության բուժման նպատակով:

Հովհաննիսյան Ն.Մ.; Աբրահամյան Ա.Կ.; Հովհաննիսյան Ա.Ն.; Պողոսյան Ա.Ս.; Ասրյան Կ.Վ.; Միրիջանյան Մ.Հ.; Պետրոսյան Շ.Մ.; Կարապետյան Ա.Գ.

Չեռնոբիլի վթարի վնասազերծողների մեծ խումբ բուժման նպատակով ընդունել է տարբեր հակաօքսիդիչ դեղամիջոցներ (Տանական, Լոշտակ "*Brionia Alba*"), ինչպես նաեւ կաթնաթթվային "Նարինե"բիոակտիվ միջոցը:

Պարզվել է, որ հակաօքսիդիչ դեղամիջոցները եւ այլ բիոդեղամիջոցներ (Նարինե) բարերար ներգործություն են թողնում այնպիսի հիվանդների առողջական վերականգնման վրա, որոնք մշտապես գտնվում են ճառագայթահարումից աղտոտված գոտում, կամ հանգամանքների բերումով մշտապես շփվում են ճառագայթահարման երեւույթի հետ

APPLICATION OF BIOSTIMULATING PREPARATIONS FOR TREATMENT OF RADIATION INJURIES

Hovhannisyan N.M., Abrahamyan A.K., Hovhannesyan A.N., Poghosyan A.S., Asryan K.V., Mirijanyan M.H., Petrosyan Sh.M., Karapetyan A.G.

In order to treatment and rehabilitate individuals, taking an immediate participation in liquidation of Chernobyl NPP accident aftermaths, there were used various biostimulating preparations, including antioxidant drugs ("Tanakan", France; antioxidant biofactor – "AOB", Japan; "Loshtac", Armenia; dairy-sour bacteria "Narine", Armenia, etc.). It is shown that the studied biostimulating drugs render positive influence on current of diseases and can be used for treatment and rehabilitation of individuals with radiation injuries.

応 用 薬 理 Ōyō Yakuri/
Pharmacometrics 66(3/4) 127-132

［総 説］

乳酸桿菌 Lactobacillus acidophilus Er-2 strain 317/402, 通称ナリネ菌の特徴とその生理機能

加藤 敏彦[1], アレクサンダー カイリス[2], 宇野 潤[3], 百瀬弥寿徳[4]

Characteristic and biological activity of Narine, Lactobacillus acidophilus Er-2 strain 317/402.

Toshihiko Kato[1], Alexander Kairis[2], Jun Uno[3] and Yasunori Momose[4]

[1]Bioseed Inc., 1 301 Katamachi, Shinjyuku-ku, Tokyo, 160 0001 Japan,
[2]International Research Foundation, 2-15-15 Sekimachi-minami, Nerima-ku, Tokyo 177-0053 Japan.
[3]Research Center for Pathogenic Fugi and Microvial Toxicoses, Chiba University, 1 8 1 Inohana, Cyuo ku, Chiba 260-8673 Japan,
[4]Department of Clinical Pharmacy School of Oharmaceutical Sciences, Toho University, 2 2 1 Miyama, Funabashi, Chiba 274 8510 Japan

Toshihiko Kato *et al*., Characteristic and biological activity of Narine, Lactobacillus acidophilus Er-2 strain 317/402, Ōyō Yakuri/Pharmacometrics 66 (3/4) 127 132 (2004)

A "probiotic", by most accepted definition, is a live microbial feed supplement which beneficially affects the host by improving its intestinal microbial balance. The major consumption of probiotic by humans is in the form of dairy based foods containing intestinal species of lactobacilli and bifidobacteria. Based on the effects of the probiotic on the intestinal ecosystem, it is proposed to have profound benefits in the consumers. A number of potential benefits from changes to the intestinal microflora through the administration of probiotic have been reported, including: 1) increased resistance to infectious diseases, 2) decreased duration of diarrhea, 3) reduction in blood pressure, 4) reduction in serum cholesterol concentration, 5) reduction in allergy, 6) immune system enhancement, 7) regression of tumors, 8) reduction in carcinogen or co-carcinogen production. Despite of this impressive list of therapeutic and prophylactic attributes, probiotic is not common part of the medical practice.

Lactobacilli and bifidobacteria are important member of the gastrointestinal microflora of humans and otheranimals. There is a substantial body of evidence that these microbes provide benefits to the host in which they reside. There is a relatively large volume of literature which supports the use of probiotic to prevent and treat intestinal and urogenital infections and other released ailments. However, the basis for the claims is often weakened by a lack of proven reliability of the preparations, and an inability to prove conclusively that the contents are safe and efficacious.

The definition of probiotic has been established and accepted by scientific community as any Generally Regarded As Safe (GRAS). Microorganism being studied for probiotic application has to have one or more of the following attributes: antimicrobial activity at least *in vitro*, in vitro resistance to bile, hydrochloric acid and pancreatic juice, colonization in GI tract (appear live in stool) or persist on biopsies of the GI mucosa after cessation of feeding, immune modulation or stimulation in human clinical trials.

Dozens of microorganisms have been shown to have desirable probiotic qualities, at least *in vitro*. However, most of the ingested bacteria do can not survive at low pH in stomach. A small number of single strains can colonize in GI and can be called as "implantable strain". Only a few strains, commercially available, have exhibited both to colonize the GI tract and confer specific benefits in human clinical trials and this is the most the credible characteristic of probiotic. There are several products in market with single or mixed strains with varying probiotic properties: Linex, Lactobacterin, Bifidumbacterin, Reuteri, etc.

Minimum content of live bacteria has to be not less than 10by8th CFU/g in probiotic preparation.

For probiotic therapy to be truly accepted in general medical practice, it must undergo rigorous clinical trials, and as

[1] 東京都新宿区片町 1 番 パレクリスタルビル 301
株式会社ビオシード
TEL 03 5367 8944, FAX 03 5363 6727
E-mail bioseed@nifty.com
[2] インターナショナルリサーチファウンデーション
[3] 千葉大学真菌医学研究センター
[4] 東邦大学薬学部医療薬学教育センター

these are expensive, government agencies and industry partners should, and indeed must, begin to invest in such studies.

We completed 3 years of research with several probiotic preparations and, surprisingly re-discover one strain of Lactobacillus acidophilus Er-317/402 from Armenia which is one of the most efficient probiotic with impressive and confirmed therapeutic and prophylactic attributes

Key words: ナリネ菌，乳酸菌，ラクトバチルス，免疫活性，アレルギー，整腸作用，プロバイオティクス

はじめに

近年，科学的にその有効性が認められるさまざまなフードサプリメントを臨床に適用する試みが医療の現場にもみられる．通常サプリメントの使用目的は疾患の治療よりはその予防である．中でも，ラクトバチルスやビフィズスを含む乳酸菌の一部には，健康維持にとどまらず疾病の予防にも有効な生きた微生物として認知され，いわゆるプロバイオティクスの中心をなしている (TABLE 1) (Gerald, 1999; Gerald, 2002; Foo, 2002).

腸内環境における微生物の役割は大変重要で，ビタミンやアミノ酸の合成，免疫機構への関与など多くの利益をもたらしている．ラクトバチルスやビフィズスはヒトや動物の腸内細菌叢の重要な構成菌であり，したがって，安全性には問題がない．プロバイオティクスとしては，安全な微生物であることの他に TABLE 2 に示すような条件があるといわれている．

十数種類の微生物が *in vitro* でプロバイオティクスの性質を示すことが報告されている．しかし，服用後に，その多くは胃液の強酸で死滅し，ごく少数の菌株しか腸へ到達できないと報告されている (Foo *et al*., 2002)．それらのある菌株は，腸内に定着してプロバイオティクスとして機能しその有効性が認められる (光岡, 2001; 細野, 2003; 辮野, 2003)．我々は過去 3 年間，数種のプロバイオティクスを調査した結果，アルメニア原産のナリネ菌 Lactobacillus acidophilus Er-317/402 (電子顕微鏡 PHOTO 1，長さ約 10 μ m) がその安全性および有効性の面から優れた素材であることを見出した．乳酸菌類はその有用性からアルメニアや旧ソ連邦ではフードサプリメントの一つとして認知され汎用されてきた．今回ここに，ナリネ菌を取り上げ，その薬理作用と医療への応用の可能性について解説する．これまでの報告の多くはロシア語，あるいはアルメニア語で記載されてきたこともあり，科学的な紹介が十分になされてこなかったことを付記しておく．

ナリネ菌の性質

Lactobacillus acidophilus，通称ナリネ菌は，1953 年にアルメニアの生物学者 Yerzinkian によって，孫娘のナリネという名前の新生児の便から発見された (Yarzinkian, 1953; Yerzinkian, 1961)．このことは，プロバイオティクスの条件の一つ，もともとヒトに存在する微生物というカテゴリーを満たしている．採取された便から分離した 16 種の乳酸菌を，耐酸性，耐フェノール性などについて検討した結果，最も科学的に強

TABLE 1　プロバイオティクスの例と効果

代表的な菌
L. acidophilus Er-2 (Narine, Armenia)
L. casei strain Shirota (Yakult, Japan)
L. casei strain DN-114001 (Dannon)
L. strain GG (Valio, Finland)
L. plantarum 299v (Probi AB, Europe)
L. reuteri (BioGaia, Sweeden)
L. fermentum (IMBP, Russia)
効果
腸内細菌叢の異常の修正回復
感染症予防
便秘や下痢の改善
血圧下降作用
コレステロールの低下
アレルギー症状の改善
免疫システムの賦活作用
腫瘍抑制効果
発ガンプロモータの抑制

TABLE 2　プロバイオティクスの条件

抗菌力がある
胆汁酸，胃酸，膵液について耐性がある
胃腸管内で増殖する
腸粘膜に対して定着性がある
免疫調節機能や賦活機能が見られる
ヒト由来である

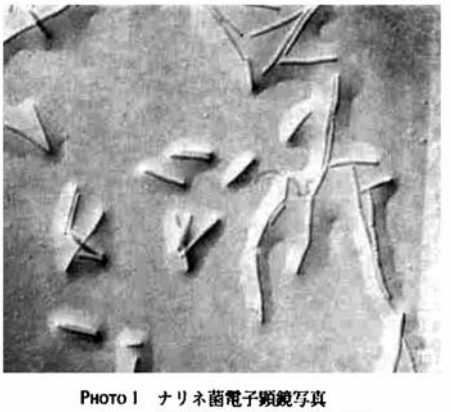


PHOTO 1　ナリネ菌電子顕鏡写真
1 つの細胞の長さは約 10 μm

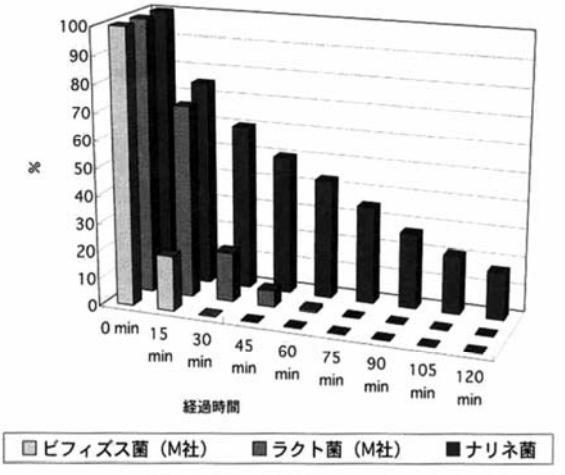


FIG 1　耐酸性試験（pH 3，塩酸）

い菌種として本菌株が登録されたものである．アルメニア，旧ソ連邦諸国でよく知られているこのナリネ菌は，抗生物質が功を奏さない腸炎に陥ったドナーに用いたところ見事に回復したことから「ナリネ」と呼ぶようになった．以下にこの稿ではナリネ菌について，その性質といくつかの臨床例を紹介する．

耐酸性

腸までの最大の難関である胃酸によってもナリネ菌は死滅しないことから，生きて腸まで届くと考えられている．我々の実験では国内で生産されているラクト菌とビフィズス菌およびアルメニア原産のナリネ菌を，pH 3.0 の塩酸溶液に浸し，15 分毎に採取して生菌数の変動を観察した．FIG 1 に示すように時間経過とともに生菌数は減少するが，ナリネ菌は 2 時間後でも約 10% 以上の生存が確認された．一方，酸に強いと言われるラクト菌でも 1 時間後に生菌は 0 となり，またビフィズス菌も 30 分後には 0 となった．また，アルメニアの実験では pH 3.0 の塩酸中であっても分裂して増殖する様子が顕微鏡下で観察されている．われわれの観察では，ナリネ菌は，36～40 度で水分があれば 20～30 分に一回分裂して増殖する．摂取条件にもよるが，アルメニアやロシアの臨床実験では食前 30 分前の摂取が推奨されている（Yaganyan, 2003）．

抗菌作用

ナリネ菌は通性嫌気性菌であり，摂取時に口内においても活動することができ，歯周病菌に効果があると言われている（Yeganyan, 2003）．ナリネ菌の抗菌性については，数多くの実験がなされているが，さまざまな菌に対する評価の一覧を示す（TABLE 3）（Yerzinkian, 1953; Yerzinkian, 1961; Yeganyan, 2003）．この TABLE に示すように広い抗菌スペクトルを示す．

TABLE 3　ナリネ菌，ラクト菌，ビフィズス菌の抗菌力の比較
（単位 mm）

細菌名	ビフィズス菌	ラクト菌	ナリネ菌
E. coli	2.8-6.0	6.4-10.0	24-28
Staph. aureus	4.0-7.0	7.3	24-26
Sal. typhimurium	4.0-8.0	7.2-13.5	24-26
Sal. paratyhi	8.0-9.0	7.2-13.5	23-28
Klebsiella sp.	8.0-9.0	7.0-7.2	23-26
Mycobact. phlei	8.0-10.0	7.0-7.2	26-28
Bac. subtilis	8.0-9.0	7.0-7.2	25-27
Ps. aeroginosa	9.0	7.0-7.2	26-28
Serr. marcecsens	9.0	2.5	26-28
Mycobact. luteum	8.0	6.0-7.0	26-30
Shigella deserteriae	7.0	4.0-14.0	24-25
Shigella flexneri	6.0-8.0	7.2	22-24

細菌を混釈した培地に乳酸菌類を載せ，24 時間培養後，菌の発育阻止像を計測

このことはナリネ菌が腸内においてさまざまな菌に抗菌力を発揮するものと考えられる（抗菌力試験 PHOTO 2）．

コレステロール低下作用

高コレステロール血症患者では腸内細菌叢の異常とコレステロール代謝障害が深く関係している．一方，*in vitro* でラクトバチルスによるコレステロール分解能が認められた．この分解能は，接触期間に相関し，気質濃度，温度，酸素供給の有無にも依存したという．高コレステロール血症患者の治療にナリネ菌を併用した場合，コレステロールレベル低下はロシアの厚生省，国立予防医学センターによりナリネ菌の影響が調べられ，60% にコレステロール低下作用が認められたこ

PHOTO 2

とを報告している。対象は40歳から60歳までの男女で，平均総コレステロール値は268.34であった。20日間の食事療法とナリネ菌を投与したグループでは平均8.7%下がり，一方単純に食事療法のみを行った対象群では平均4.7%の減少に止まった (Yeganyan, 2003; Yeganyan, 1999; Volonsnikova *et al*., 1996; Lenster *et al*., 1986; Panchishina, 1988)。

放射線被曝に対する効果

かつてチェルノヴィリの原発事故では処理に当たった作業員ばかりでなく，周辺の子供たちに甲状腺がんが多発するなどの多大な被害が出た。その被曝者の治療にナリネ菌，ビフィズス菌，他のラクト菌で腸内細菌叢の異常を改善した。ナリネ菌では20日間で約70%に正常化が見られたが，他の2種のラクト菌とビフィズス菌では改善が見られなかったという (Oganesyan *et al*., 1991; Malikoyan *et al*., 1988)。

免疫活性

乳酸菌の免疫機構に対する働きについては，多くの文献がある (光岡, 2001; 細野, 2003; 細野, 2003; Kita *et al*., 1987; Kita *et al*., 1987; Kita *et al*., 1987; Sugiura *et al*., 1994)。腸内環境を整えることによって，ヒト免疫機構に重要な役割を演じていることは間違いないと思われる。わが国でも1994年に，ナリネ菌製剤を使ったマウスでの実験において，貪食細胞の活性化に有効であることが報告されている。その他には最近では，ラクトバチルス，ビフィズス菌には免疫賦活化活性を有するとの報告がある。

新生児と乳児の腸内細菌叢異常に対する有効性

33名の未熟児を含むウイルス感染症男女163名の入院している乳幼児を対象とした治験例での腸内細菌叢の改善は，入院初日から始まりラクトバチルス菌やビフィズス菌の増加が観測された。また，液状便からの回復が早く，体重の増加も大きかった。また，抗生物質治療群での使用では加療入院日数が減少した。対象群と比較してみると，ナリネ投与群では1gあたり40%で，10の9乗個のビフィズス菌の増加が見られ対象群の4%に比べ10倍であった (Barsegyan *et al*., 1991)。

小児の腸炎についての治験では，患者55名中44名にナリネ菌を服用させ，11名には他のラクト菌を服用させた。回復率は両者とも高いが，回復期間はナリネが有意に早く (FIG 2)，3日後完全に回復した者はナリネを服用したうちで36名，8名に回復の兆しがあった。対照では6名に回復の兆しがあったが，5名には変化がなかった。7日後にナリネ群は8名中5名が回復した。10日後には残り3名のうち2名が回復したが，1名は完全には回復しなかった。いずれにしても44名中43名が10日以内に完全に回復した。ラクト菌を服用した残り5名では10日後には3名は変化が認められず，2名が回復した。3日目に回復傾向にあった6名と合わせ11名中8名が回復した (Kuznetsova *et al*., 1999; Bondarenko *et al*., 1988; Kostyuk *et al*., 1998; Gerald, 2002)。

抗腫瘍効果の可能性

ラットの腸管細胞を用いた *in vitro* の実験では，ナリネ菌は明らかにcycrophosphamideおよびthiotepaによる骨髄細胞染色体異常を減少させた。TABLE 4に結果を示す (Ner-

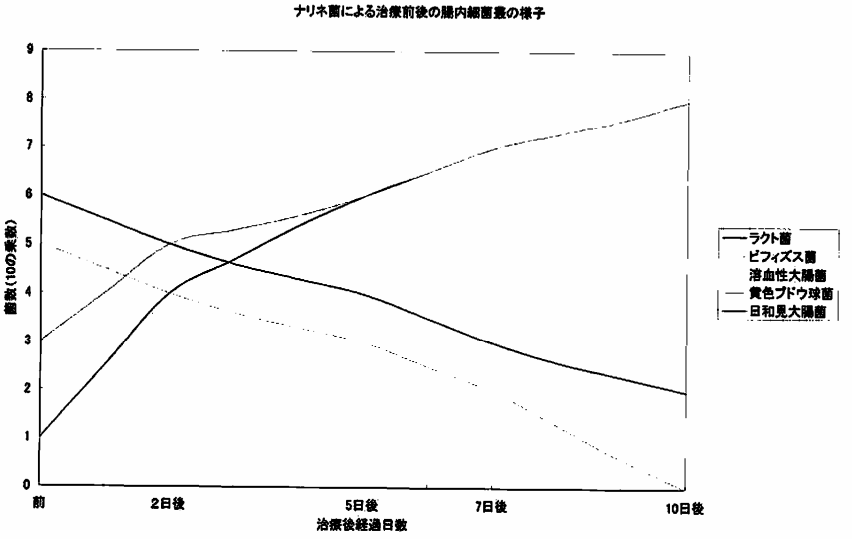


FIG 2　ナリネ菌による治療前後の腸内細菌叢の様子

TABLE 4　ラット腸管の DNA 損傷に及ぼすナリネの影響

Experimental groups	Length of comets (μm)	Arbitrary units	Undamaged cells %
Negative control	30.95±0.35	23.7±3.0	81.8±2.5
Positive control	61.08±0.73	110.8±11.2	16.0±4.8
Whole culture+MNMG	53.98±0.56	101.5±8.2	23.7±2.7
Supernatant+MNMG	59.77±0.51	103.2±12.9	20.0±3.2
Pellet+MNMG	42.12±0.42	82.7±7.6	54.5±5.5

sesyan, 2001). 我国ではボランティアによるナリネ服用の実験が行われ，インターフェロンの変化が観察された．α インターフェロンの急増が認められ，γ インターフェロンは大いに増加し，影響が長期であった．また NK 活性の変化が観察された (Kita *et al.*, 1987; Kita *et al.*, 1987; Kita *et al.*, 1987).

アレルギー症状の改善

アルメニア共和国の小児病院での研究では小児 369 名のうち 185 名はナリネを 3 歳以下の小児に食前 20 分前に 1 回投与し，3 歳を越える小児には 2 回投与した．残りの小児 184 名は対照グループとした．両グループの 53.6% に侵出性素因の皮膚症状があり，4.2% に蕁麻疹，42.2% にクインケ浮腫があった．ナリネを投与群では，優良な症例が 52.8%，満足する結果が 30%，不満足な結果は 17.1% であった．対照グループでは，優良な結果が 40.6%，満足な結果が 35.3% で，不満足な結果が 24.1% であった．ナリネの服用による，副作用は報告されなかった．得られた結果より，ナリネの高い臨床作用が証明された (Ministry of health of the Russian Federation, 2000).

慢性膵炎の応用

慢性膵炎では消化酵素の不足により，過剰の未消化物が大腸内に入る．そして腐敗細菌叢の過剰増殖をきたす．小腸での細菌の交代が，消化酵素の破壊速度を速め，消化過程をさらに混乱させる．慢性膵炎の併用療法にナリネ剤を導入すると，消化の安定した改善が促進されることが示された．慢性膵炎患者は腸内細菌叢の異常によって吸収不良症候群を伴うと考えられており，ナリネ菌投与によって腸内細菌叢が改善されることで，治療成績に好影響を与えたと報告されている (Harutyunyan *et al.*, 2000).

糖尿病への導入

インスリン依存性糖尿病についての報告がある．5 から 10 歳の小児にナリネを服用し，並行して糖尿病の治療も行った．血糖値および尿中のアセトン体を測定した結果，ナリネ服用群では何の副作用無しに 2 週間ほどで血糖値及び尿糖も改善

された (Lobvina, 1992).

結　論

われわれの身近で食品として利用されてきた乳酸菌が見直され，予防医学の分野で大きな役割を演じる可能性が見出されている．たとえば，抗生物質の多用による耐性菌の問題などを解決する手段の一つとなり得るのではと期待される．ナリネ菌ラクトバチルスアシドフィルス Er317/402 は，他の乳酸菌に比べて耐酸性にすぐれたヒト由来の乳酸桿菌であることからヒトに対して親和性があると考えられ，安全性にも問題がなく，加えて，旧ソ連邦を中心ではあるが，発見以来数多くの臨床応用と実績を積み重ねてきた菌種である．最近プロバイオティクスという考え方が生まれ，それに合致するものも数々提案されてきた．ナリネはその中でも最もその目的に適った乳酸菌のひとつであるといえる．

今後，わが国での更なる臨床的検討が必要であるが，有用菌である乳酸菌の研究によって古くて新しい分野が切り開かれてゆくことを期待したい．

文　献

Gerald W editor: Probiotics (1999): A critical review Probiotics; Horizon Scientific Press, New Zealand.

Gerald W editor. (2002): Probiotics and Prebiotics: Where are We Going; Caister Academic Press, New Zealand.

Foo EL *et al* editor (2002): The Lactic Acid Bacteria; Horizon Scientific Press, New Zealand.

Yerzinkian L A (1953): Domestic strains of Lactobacteruim acidophilum and some products of their activity. In Problems of Agricultural and Industrial Microbiology, Collect.. Sci.. Papers, Yerevan, N1(7), p. 123-139Yerzinkian L A (1961): Antibiotic properties of some lactic acid bacteria of the intestinal tract. Problems of Agricultural and Industrial Microbiology, Collect.. Sci.. Papers, Yerevan.

Yeganyan GA (2003): Use of narine CDB for prevention and treatment of a number of diseases. Vitamax-E.

光岡知足　編: 21 世紀腸内フローラ研究の新しい動向, 学会出版センター, 2001.

細野明義: 乳酸菌とヨーグルトの保健効果, 幸書房, 2003.

細野義己: 究極のヨーグルト健康法, 講談社プラス α 新書, 2003.

Yeganyan RA (1999): Study of influence of the narine fermented milk product on the cholesterol level of the blood serum in hypercholesterolemia. Research center of the preventive medicine, Ministry of Health Russian Federation, Moscow.

Volonsnikova IV *et al*. (1996): Microecological approarches towards reguration of cholesterol metabolism.Collection of Abstracts of the 3rd international symposium, Moscow,April.

Lenster AA *et al*. (1986): To the question of cholesterolytic activity of lactobacilli.Tarty.

Panchishina MV (1988): Clinico-experimental materials on participation of intestinal microflora in cholesterol metabolism in some internal diseases. *Abstract of Doctor's Thesis*, Moscow.

Methodical recommendations: Ministry of Health Republic of Armenia. Research institute of medical radiology.

Oganesyan NM *et al*. (1991): Collection of the intestinal microflora in persons subjected to small doses if ionizing radiation by means of lyophilizated drug Narine. Scientific-Research Institute of Medical Radiology, Ministry of Health, Armenia.

Malikoyan SA *et al*. (1988): Expermenrtal study of efficiency of combined administration of Narine product and gentamycin in combined radiation-thermal injury. Mterials of the V All Union Symposium, Obninsk.

Kita M *et al*. (1987): Produce of alpha and gamma interferon inpatients with liver diseases,diabetes and chronic kidney pathology. Bulletin of Pastor Institute.

Kita M *et al*. (1987): Stimulation of interferon produce by Narine bacteria. Clinical report.

Kita M *et al*. (1987): Expermental research of nutritious additive Bon-Narine on volunteers. Clinical report.

Sugiura H: *et al*. (1994): Effect of ingestion of Bon-Narine on immune fuctions in mice. Nippon Eiseigaku Zasshi.

Barsegyan RA *et al*. (1991): Concerning clinical trials of the methods of dry bacterial preparation application for treatment and prevention of intestinal dysbaceriosis among newborns and infants. Armenia Science Yerevan State Medical Institute.

Kuznetsova GG *et al*. (1999): Effect of food bioproducts with probiotic properties on microecology of intestine in children of early age. Materials of Russian Conference Moscow.

Bondarenko VM *et al*. (1988): Dysbacteriosis of the gastrointestinal tract. RussianJournal of Gastroenterology, Coloproctology.

Kostyuk OP *et al*. (1998): Physiological and therapeutic properties of lactobacilli. Pediatrics.

Grigoryan EG *et al*. (2000): Theoretical and applied aspects of gastroenterology.Materials of the V Session of Academy of Medicine, Yerevan, Armenia.

Nersesyan AK (2001): Antigenotoxic action of narine lactobacilli in rat colon cells in vitro. Expermental Oncology, 23.

Ministry of health of the Russian Federation (2000): Izmailovskaya Children's city clinical hospital: The report on the results of clinical testing of the therapeutic product narine of the Vitamax firm. September, 21-22.

Methodical recommendations: Ministry of Health Republic of Armenia. Department of therapeutic and preventive assistance for children and mothers.

Harutyunyan VM *et al*. (2000): Changes of the intestine microflora in chronicpancreatitis. Yerevan State Medical University.

Lobvina Vya (1992): Affirmed Deputy Head Physician by Medical Side of Children's City Specialized. Ukraina Clinical Hospital N14, 12, August.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СБОРА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ТРАВ IN VITRO У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ.

З.Р. Тер-Погосян, С. К. Карамян, Н.Г.Джагацпанян, М.Г. Гаспарян, З.А.Каралян.

Национальный центр онкологии им. В.А. Фанарджяна МЗ РА

Ключевые слова: лекарственный сбор, перевиваемые клеточные культуры, антивирусное действие, иммуномодуляция.

Key words: preparation of medicinal grasses, cellular cultures, anti-virus action, immunomodulation.

Актуальность поиска новых эффективных и безопасных лекарственных средств для коррекции нарушений различных звеньев иммунной системы неуклонно возрастает (1,2,3,4). При этом, одинаково важное значение имеет применение как иммунотропных средств направленного действия, так и биологически активных веществ широкого спектра активностей, в том числе адаптогенов. Не менее сложной задачей медицинской науки является также поиск антивирусных препаратов (5,6), клиническое применение которых часто ограничено их токсичностью.Вышеизложенное тем более важно в отношении онкологических больных запущенных стадий, подвергающихся лучевому лечению, нередко усугубляющему имеющийся у них иммунодефицит, на фоне которого могут реактивироваться персистирующие вирусные инфекции (7).

В аспекте вышесказанного, представлялось целесообразным изучить возможное иммуномодулирующее и антивирусное действие сбора лекарственных трав (пропись 1, регистрационный номер - N-892,10.04.01) в норме и при опухолевой патологии, применяемого у больных со злокачественными новообразованиями для смягчения отрицательного действия лучевой терапии.

Материал и методы.

Изучение токсичности проводили на 2-х трансформированных клеточных линиях человека - Нер-2 (аденокарцинома гортани) и СаСо-2 (аденокарцинома толстого кишечника), а также на суспензионной культуре мононуклеаров периферической крови (МПК) человека. Антивирусное действие препарата (терапевтическое и профилактическое) изучено в отношении вирусов энцефаломиокардита мышей и полиемиелита (вакцинный штамм Sabin) по влиянию на репродукцию вируса в перевиваемых клеточных культурах, о подавлении репродукции судили по степени защиты монослоя клеток от цитопатического действия вирусов (ЦПД). Вирулицидный эффект препарата учитывали по степени нейтрализации вируса после 2-х часовой инкубации при 37^{o} С. Тест-вирусы использованы в дозе 10 $ТЦД_{50}$.

Способность к индукции интерферона-гамма (ИФН-гамма) in vitro под воздействием митогена-фитогемагглютинина изучалась в мононуклеарах

периферической крови, результаты учитывались методами биологического титрования и иммуноферментного анализа (ИФА). Для изучения иммуномодулирующего действия сбора МПК выделяли на градиенте плотности Ficoll-Pac (France), подсчет субпопуляций Т-лимфоцитов производили с помощью моноклональных антител Immunotech (France).

Результаты и обсуждение.

1. Изучение токсичности сбора в отношении суспензионной и перевиваемой клеточных культур.

Возможная токсичность сбора в различных разведениях (1/10, 1/50, 1/100) в отношении МПК, СаСо-2 и Нер-2 была изучена спустя 24, 48, 72 и 96 часов.

Данные проведенных опытов свидетельствуют об отсутствии токсичности препарата, при всех испытанных дозах, на мононуклеары периферической крови человека**.** Показано также отсутствие цитотоксичности тех же концентраций сбора на рост и прикрепление клеток, а также при нанесении на 48- часовый монослой изученных клеточных культур.

2. Изучение противовирусного и вирулицидного действия сбора.

Учитывая отсутствие токсичности препарата на клеточных культурах, как суспензионной, так и монослойной, в дальнейших экспериментах использована доза препарата 1/10.

а) **Терапевтическое** действие сбора изучено на клеточных культурах СаСо-2 и Нер-2 в отношении вирусов полиомиелита и энцефаломиокардита мышей - сбор наносили на сформировавшийся клеточный монослой одновременно с вирусом. Полученные результаты представлены в табл. 1 и 2.

Табл.1.

Терапевтическое действие сбора в отношении вируса полиомиелита.

Испытуемые пробы	Степень защитного действия			
	1 опыт	2 опыт	3 опыт	Усредненные данные (%)
Сбор +вирус	1/8	2/8	0/8	12.5
Сбор-контроль	8/8	8/8	8/8	100
Контроль клеток (СаСо-2)	8/8	8/8	8/8	100
Контроль вируса	0/8	0/8	0/8	0

Как показывают данные табл., сбор не оказывал противовирусного действия на культуре Саco-2 при одновременном с вирусом внесении.

Табл. 2

Терапевтическое действие сбора в отношении вируса энцефаломиокардита мышей.

Испытуемые пробы	Степень защитного действия			
	1 опыт	2 опыт	3 опыт	Усредненные данные (%)
Сбор (1/10) +вирус	1/8	2/8	1/8	16.7
Сбор-контроль	8/8	8/8	8/8	100
Контроль клеток (Нер-2)	8/8	8/8	8/8	100
Контроль вируса	0/8	0/8	0/8	0

Полученные данные свидетельствуют об отсутствиии терапевтического противовирусного действия сбора в отношении обоих изученных вирусов.

б) **Профилактическое действие** сбора изучено на тех же моделях клеточных культур (СаСо-2 и Нер-2) при внесении сбора за 2 часа до внесения вируса. Опыты проводили в трех повторностях, усредненные данные представлены в табл. 3.

Табл.3.

Профилактическое действие сбора в отношении вируса полиомиелита.

Испытуемые пробы	Степень защитного действия			
	1 опыт	2 опыт	3 опыт	Усредненные данные (%)
Сбор (1/10) +вирус	3/8	4/8	3/8	41.7
Сбор-контроль	8/8	8/8	8/8	100
Контроль клеток (СаСо-2)	8/8	8/8	8/8	100
Контроль вируса	0/8	0/8	0/8	0

Аналогичные данные получены в отношении вируса энцефаломиокардита мышей.

Итак, согласно полученным данным, при профилактическом способе введения сбор защищает клеточный монослой на 41.7% в клетках культуры СаСо-2 и на 45.8% - в клетках культуры Нер-2.

в) **Вирулицидное действие сбора.** Для изучения возможного вирулицидного действия сбор преинкубировали с вирусом в течение 2 час. при 37^0С и наносили на сформировавшийся клеточный монослой. Опыт произведен в трех повторностях, полученные результаты представлены в табл. 4.

Табл. 4.

Вирулицидное действие сбора в отношении вируса полиомиелита.

Испытуемые пробы	Степень защитного действия			
	1 опыт	2 опыт	3 опыт	Усредненные данные (%)
Сбор (1/10) +вирус	0/8	1/8	0/8	3.75
Сбор-контроль	8/8	8/8	8/8	100
Контроль клеток (СаСо-2)	8/8	8/8	8/8	100
Контроль вируса	0/8	0/8	0/8	0

г) Индукция интерферона-гамма in vitro**.** С целью выявления механизмов показанного защитного эффекта сбора, была изучена также возможная способность сбора к индукции интерферона in vitro на мононуклеарах периферической крови, однако сбор в изученной концентрации не индуцировал значимых титров интерферона-гамма (< 10 Ме/мл).

3. Иммуномодулирующее действие сбора. Изучение возможного иммуномодулирующего действия сбора проводилось in vitro в отношении различных субпопуляций Т-лимфоцитов (СД3+, СД4+, СД8+), В-лимфоцитов (СД19+), естественных клеток-киллеров (СД56+) по воздействию на дифференциацию. Контролем служили пробы, преинкубированные с

официнальными препаратами, имеющими выраженное иммуномодулирующее действие. Опыт произведен в двух повторностях, результаты представлены в табл. 5 и 6.

Табл. 5

Сравнительное влияние сбора и иммунотропных препаратов на дифференциацию Т-лимфоцитов in vitro у здоровых лиц и больных онкологическими заболеваниями.

Группы обследованных	Уровень СД3+ и индекс модуляции в %				
	Контроль	Тималин	Цикло-ферон	Интерферон	Сбор
Здоровые	50.7	51.0	47.2	55.7 (9.86)*	54.5 (7.5)*
Больные	46.0	50.7 (15.4)*	44.3	58.0 (31.1)*	51.0 (15.9)*

Примечание - *индекс модуляции > 15 %.

Согласно полученным данным, у онкологических больных наибольшую модуляцию Т-лимфоцитов вызывал интерферон (31). Тималин и изучаемый сбор также воздействовали на дифференциацию изучаемых субпопуляций, но в меньшей степени - 15. Низкие уровни модуляции у здоровых лиц свидетельствуют, что изучаемый сбор действует по типу большинства иммунокоррегирующих препаратов, не влияя на дифференцировку Т-лимфоцитов у лиц с нормальным их содержанием.

Табл. 6

Влияние сбора на дифференциацию субпопуляций Т- и В-лимфоцитов и естественных клеток-киллеров in vitro у больных онкологическими заболеваниями.

Пробы	Уровень СД3+ и индекс модуляции в %			
	СД4+	СД8+	СД19+	СД56+
МПК+сбор	28.5* (22.4%)	24.0	14.1	8.6
МПК контроль	22.1	23.7	10.3	8.1

Примечание - *индекс модуляции в %.

Данные табл. демонстрируют иммунокорригирующее действие сбора in vitro в отношении СД4+ субпопуляции Т-лимфоцитов - индекс модуляции -22.4. В отношении В-лимфоцитов и естественных киллеров сбор не проявлял иммуномодулирующей активности.

Итак, согласно результатам исследования, сбор в изученных разведениях не токсичен в отношении мононуклеаров периферической крови человека, а также клеток перевиваемых линий СаСо-2 и Нер-2.

Показана определенная профилактическая эффективность сбора на ингибицию репродукции вирусов полиомиелита и энцефаломиокардита мышей (степень защиты, соответственно, 41.7% и 45.8%) при внесении его за 2 часа до заражения.

Представляет интерес также выявленное иммунокорригирующее действие сбора в отношении Т-лимфоцитов (СД3+ и СД4+) у онкологических больных с количественным иммунодефицитом этих субпопуляций, одна из которых (СД4+) является, как известно, одной из ключевых в противоопухолевой защите.

Вышеизложенное свидетельствует, что изученный сбор являетсяадаптогеном широкого спектра, а дальнейшее изучение его представляется целесообразным.

Литература

1. Eisen H.W.- General immunology, 1990, USA, p. 259
2. Чиркин В.В., Семенов В. Ф., Карандашев В.И.- Вторичные иммунодефициты, Москва, “Медицина”, 1999, стр. 245
3. Фрейдлин И.С., Ярилин А.А.- “Основы иммунологии”, Москва, Медгиз, 1999
4. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В.- Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения Иммунология, 2000 N 5 , 4-8
5. Камалян Л.А., Гаспарян М.Г., Хангельдян А.Г., и др.- О роли вирусов папилломы человека типов 16 и 18 и иммунных нарушений при раке шейки матки.- Мед. наука Армении, 2002,XLII,3,45-48
6. Van-der-Maide P. H., Schelleken H. Cytokines and the immune responce. Biotherapy, 1996, 8, 3-4, 243-9.
7. J.A.Blaho, S.A.Aaronson. Convincting a human tumor virus: Guilt by association?//PNAS, 1999,N 14, p.7619-7621.

In vitro biological activities of a preparation of medicinal grasses in oncologial patients.

Z.R.Ter-Pogosyan, S.K.Karamyan, N.G.Dzhagatspanyan. M.H. Gasparyan, Z.A.Karalyan.

Summary

The influence of the gathering of medicinal grasses (complex 1) on some parameters of the immune status at healthy persons and patients with malignant tumours, exposed to X-ray therapy was study.Studying possible immunomodulator actions of preparation was carried out concerning various subpopulations T-lymphocytes (СД3 +, СД4 +, СД8 +), B-lymphocytes (СД19 +), natural killer cells (СД56 +) on the influence on their differentiation. Anti-virus action of a preparation (therapeutic and preventive), investigated on cellular cultures CaCo-2 and Hep-2 concerning a poliomyelitis and encephalomiocarditis viruses.

According to results of research, preparation is not toxic as in mononuclears of the human peripheric blood, as cells of both investigated cultures. Preparation does not possess therapeutic action concerning the viruses used in work, however its preventive application has revealed the certain antiviral effect of a preparation.Interest represents also immunocorrective action of a preparation at T-limphocytes (СД3 + and СД4 +) in oncological patients with a quantitative immunodeficiency of these subpopulations, being, as is known, one of key in antineoplastic protection.

Բժշկական բույսերի հավաքածոյի կենսաբանական ակտիվությունը in vitro քաղցկեղով հիվանդների մոտ

Ջ. Ռ. Տեր-Պողոսյան, Ս. Կ. Քարամյան,Ն. Գ. Ջաղացպանյան, Մ.Հ. Գասպարյան, Ջ. Ա. Կարալյան.

Ամփոփում

Բժշկական բույսերի հավաքածո,, բջջային կուլտուրաներ, հակավիրուսային ազդեցություն, իմունոմոդուլյացիա

Հետազոտված է բժշկական բույսերի հավաքածոյի հակավիրուսային և իմունոմոդուլյատոր ազդեցությունը առողջ մարդկանծ և քաղցկեղով հիվանդների մոտ, որոնք ենթարկվել են ճարագայթային բուժման: Իմուն համակարգի վրա ազդեցությունը ուսումնասիրված է բջջային իմունիտետի ծուծանիշներով՝ (СД3 +, СД4 +, СД8 +, СД19 + СД56 +), հակավիրուսային ազդեցութունը՝ բջջային կուլտուրաների վրա՝ CaCo-2 և Hep-2 - պոլիոմիելիթի և էնցեֆալոմիոկարդիտի վիրուսների վերաբերյալ:

Ստացված արդունքները ցույց էն տալիս հավաքածոյի որոշակի պրոֆիլակտիկ հակավիրուսային ազդեցությունը և in vitro իմունոմոդուլյատոր ազդեցությունը T-լիմֆոցիտների СД3 +, СД4 + սուբպոպուլյացիաների վրա:

УДК 547.972

ФЛАВОНОИДЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФЛОРЫ АРМЕНИИ

В.А.Мнацаканян

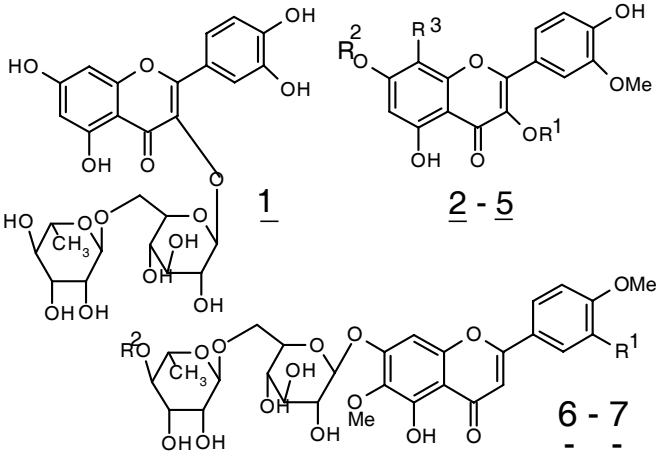
Институт тонкой органической химии им. А.Л.Мнджояна НАН РА, Ереван

Ключевые слова – лекарственные растения, флавоноиды.
Key words: medicinal herbs, flavonoids.

Уже несколько десятилетий флавоноидные соединения и содержащие их растительные экстракты привлекают к себе все возрастающее внимание исследователей, особенно химиков и фармакологов, благодаря разносторонней биологической активности, в частности, Р-витаминной, антиоксидантной, противовоспалительной, желчегонной, проявляемой этим классом природных растительных органических соединений.

В лаборатории химии лекарственных растений Института тонкой органической химии на протяжении многих лет ведутся работы по систематическому изучению биологически активных веществ (алкалоидов, терпеноидов, иридоидов, флавоноидов) лекарственных и потенциально лекарственных растений флоры Армении, содержащей более 3000 видов. Наряду с общими методами фитохимического анализа в лаборатории используются также специфические для каждого класса растительных веществ методы выделения и установления строения. Именно такими методами был исследован флавоноидный состав надземных частей 9 дикорастущих в Армении видов: трех видов из семейства маревых (Chenopodiaceae) – солянки серо-голубой (Salsola glauca M.B.), солянки влажной (Salsola macera Litw.), бинерции окружнокрылой (Bieneria cycloptera Bge.); марены грузинской (Rubia iberica C.Koch., Rubiaceae, сем. Мареновые), льнянки линейной (Linaria lineolata Boiss., Scrophulariaceae, сем. Норичниковые); четырех видов из семейства яснотковых (Lamiaceae) – дубровника гирканского (Teucrium hyrcanicum L.), дубровника беловойлочного (Teucrium polium L.), змееголовника многостебельного (Dracocephalum multicaule Montbr. et Auch. ex Benth.), зизифоры склоненной (Ziziphora clinopodioides Lam.) и бессмертника переливчатого (Helichrisum undulatum Ledeb., Asteraceae, сем. Астровые).

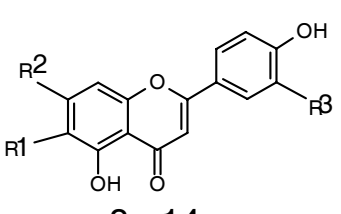
В изученных 9 видах растений, применением методов адсорбционной хроматографии (колоночной и тонкослойной), гидролиза, ацетилирования, УФ-спектроскопии с ионизирующими и комплексообразующими добавками, анализом спектров ^{1}Н-ЯМР и масс-спектров, было констатировано наличие в общей сложности 28 приведенных ниже флавоноидов.



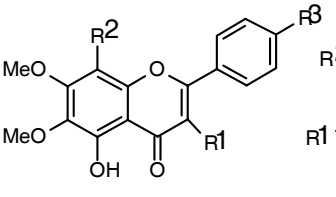
1

2 - 5

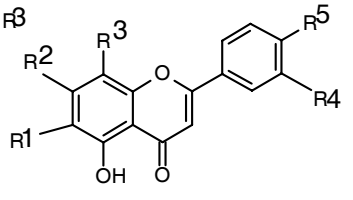
6 - 7



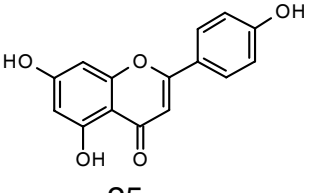
8 - 14



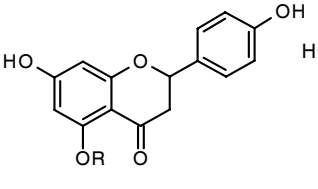
15 - 19



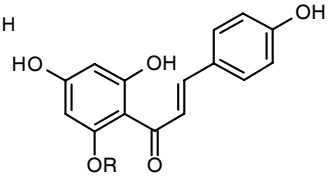
20 - 24



25



26 - 27



28

Из солянки серо-голубой были выделены рутин (1) (с выходом 0,08% от массы надземной части), его агликон – кверцетин и изорамнетин-3-О-глюкозид (2, R^1= -□-D-глюкопиранозил, R^2=R^3=H), из солянки влажной – только изорамнетин-3-О-глюкозид /1/. В бинерции окружнокрылой были обнаружены три глюкозилированных производных лимоцитрина – лимоцитрин –7-О-глюкозид (3, R^1=H, R^2= -□-D-глюкопиранозил, R^3= -OCH_3), лимоцитрин –7-О-глюкобиозид (4, R^1=H, R^2=-□-D-глюкопиранозил-□-D-глюкопираноза, R^3= - OCH_3) и лимоцитрин – 3-О-глюкозид (5, R^1= - □-D- глюкопиранозил, R^2=H, R^3= -OCH_3) /2/. В траве марены грузинской обнаружили только рутин (1), а льнянки линейной – пектолинарин (6, R^1=R^2=H) и ацетиллпектолинари(7, R^1=H, R^2= -ацетил). Из дубровника гирканского, наряду с пектолинарином (6), были выделены и другие рутинозидные флавоны: линарин (8, R^1=R^3=H, R^2= рутинозил), диосмин (9, R^1=H, R^2= - рутинозил, R^3=OH), а также свободные флавоны педалитин (10, R^1=R^3=OH, R^2=OCH_3), лютеолин (11, R^1=H, R^2=R^3=OH) и 7-О-глюкозид последнего (12, R^1=H, R^2= О-□-D –глюкозил, R^3=OH) /3,4/. В дубровнике

беловойлочном выявили известные флавоны: 5,3',4'-тригидрокси-6,7-диметоксифлавон (13, $R^1=R^2=OCH_3$, $R^3=OH$) и 5,4'-диокси-6,7-диметоксифлавон (14, $R^1=R^2=OCH_3$, $R^3=H$) /5/, а в змееголовнике многостебельном - пять метилированных флавонов: 5-гидрокси-3,6,7,8,4'-пентаметоксифлавон (15, $R^1=R^2=R^3=OCH_3$), 5-гидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавон (16, $R^1=H$, $R^2=R^3=OCH_3$), 5,4'- дигидрокси-3,6,7,8-тетраметоксифлавон (17, $R^1=R^2=OCH_3$, $R^3=OH$), 5,4'-дигидрокси-3,6,7- триметоксифлавон (18, $R^1=OCH_3$, $R^2=H$, $R^3=OH$) и 5,4'-дигидрокси-6,7-диметоксифлавон (19, $R^1=R^2=H$, $R^3=OH$) /6/. Из зизифоры склоненной выделили три рутинозилсодержащих и три свободных (агликоновых) метилированных флавонов: хризин-7-О-рутинозид (20, $R^1=R^3=H$, $R^2=$ -рутинозил, $R^4=R^5=OH$), акацетин (21, $R^1=R^3=R^4=H$, $R^2=$ - рутинозил, $R^5=OCH_3$), диосметин (22, $R^1=R^3=H$, $R^2=$ - рутинозил, $R^4=OH$, $R^5=OCH_3$), метилсудахитин (23, $R^1=R^2=R^3=R^4=OCH_3$, $R^5=OH$), тимонин (24, $R^1=R^5=OH$, $R^2=R^3=R^4=OCH_3$) и лютеолин (11) , которые в этом растении ранее не были обнаружены /7,8/. Соцветия бессмертника переливчатого, одного из распространенных в Арменнии 12 представителей этого рода, по данным фармаколого-клинических исследований активности спиртового экстракта /9/, являются перспективным заменителем бессмертника песчаного, содержащего в качестве основного "действующего начала" смесь флавоноидов: апигенина (25), нарингенина (26, R=H), салипурпозида (27, R=-□-D-глюкопиранозил) и изосалипурпозида (28, R=-□-D-глюкопиранозил). С целью химической проверки обоснованности этих данных, был изучен состав флавоноидной фракции соцветий бессмертника переливчатого из Егегнадзорского района. Установлена близость качественного состава флавоноидов с таковым бессмертника песчаного, определено солержание суммы флавоноидов в соцветиях и в сухом флавоноидном концентрате (в исходной базисной субстанции препарата Фламин), составившей 10,2% и 76,3%, соответственно /10/. Разработана технология получения Фламина из этого сырья.

Изучение биологической активности флавоноидных фракций бинерции окружнокрылой, осуществленное в отделе биологии Института тонкой органической химии, показало, что смесь флавоноидов бинерции на моделях экспериментального перитонита, плеврита и pellet-гранулеме проявляет в значинельно меньших дозах, чем рутин и препарат каленлулы, более высокую противовоспалительную активность и практически лишена токсичности (МПД больше 7500 мг/кг). /2/. Изучение же активности суммарной флавоно-гликозидной фракции дубровника гирканского выявило ее выраженное стимулирующее действие на процесс свертывания крови у интактных животных и у животных с экспериментальной гипокоагуляцией /11,12/.

Приведенные результаты однозначно свидетельствуют об актуальности и целесообразности исследований флавоноидов растений, не включенных еще в список лекарственных растений официальной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мнацаканян В.А., Агабабян Э.Ю., Арутюнян К.С. Флавоноиды Salsola glauca и Salsola macera. Химия природных соединений, 1981,N5,с. 660.
2. Мнацаканян В.А., Арутюнян К.С., Агабабян Э.Ю., Апоян Н.А. Способ получения смеси флавоноидов с противовоспалительной активностью. Авт.свид. СССР, N1089789 (1984).
3. Оганесян Г.Б., Мнацаканян В.А. Флавоноиды Teucrium hyrcanicum Химия природных соединений,1987, N6, с. 910.
4. Оганесян Г.Б., Мнацаканян В.А., Гач-Байтс Э., Радич Л. Флавоноидные гликозиды Арм.хим.ж., 1989, т.42, N10, с. 646.
5. Оганесян Г.Б., Мнацаканян В.А. Флавоноиды дубровника беловойлочного (Teucrium polium). Арм.хим.ж., 1985, т.37, N1, с.57.
6. Оганесян Г.Б., Мнацаканян В.А., Гач-Байтс Э. Флавоноиды Dracocephalum mukticaule L. Арм.хим.ж., 1989, т.42, N11, с.717.
7. Оганесян Г.Б., Галстян А.М., Гач-Байтс, Мнацаканян В.А. Олеаноловая кислота и фкавоноидные гликозды Ziziphora clinopodioides Lam. Арм.хим.ж., 1990, т.43, N3,с. 210.
8. Оганесян Г.Б., Галстян А.М., Мнацаканян В.А., Пароникян, Р.В., Тер-Захарян Ю.З. Фенольные и флавоноидные соединения Ziziphora clinopodioides. Химия природных соединений, 1991, N2,с. 285.
9. Мирзоян С.А., Вартазарян Б.А. Труды Ереванского мед.инст. 1960, вып. 10.
10. Мнацаканян В.А., Ерибекян М/И/. Камалян Н.С., Агабабян Э.Ю. Исследование бессмертника переливчатого в качестве заменителя бессмертника песчаного. 1 Научно-практическая конференция “Интегративная медицина”, Ереван 1999, Тезсы докладов, с.22.
11. Буниатян Ж.М., Степанян Н.О., Мнацаканян В.А., Оганесян Г.Б. Влияние флавоно-гликозидной фракции дубровника гирканского на экспериментально нарушенный процесс свертывания крови. Растительные ресурсы, 1994, N1-2, с.91.
12. Буниатян Ж.М., Степанян Н.О., Мнацаканян В.А., Оганесян Г.Б. Действие флавоно-гликозидной фракции дубровника гирканского на скорость свертывания крови крыс. Биол.ж.Армении, 1995, N4, с. 8.

Հայաստանի բուսաշխարհի որոշ ներկայացուցիչների ֆլավանոիդներ:

Վ.Հ. Մնացականյան

ՀՀ ԳԱԱ Ա.Լ.Մնջոյանի անվ.Նուրբ օրգանական քիմիայի ինստիտուտի դեղաբույսերի քիմիայի լաբորատորիայում ուսումնասիրվել է հանրապետությունում տարածված 9 վայրի աճող բույսերի վերգետնյա մասի ֆլավանոիդային կազմը: Անջատոել են 28 ֆլավոնոիդներ, որոնցից 25-ը պատկանում են ֆլավոնի ածանցյալների շարքին: Հայտնաբերվել է բիներցիա շրջաթև բույսի ֆլավանոիդային խառնուրդի արտահայտված հակաբորբոքային հատկությունը և լերդախոտ հիրկանյանի ֆլավոնոիդային գումարի արյան մակարդելությունը խթանող ակտիվությունը: Ցույց է տրվել, որ անթառամ շողշողուցը կարող է փոխարինել ավազային անթառամին:

The flavonoids of some Armenian plants.

V.A. Mnatsakanyan

The flavonoid compositions of nine species of Armenian plants was been studied in the laboratory chemistry of herb of the A.L.Mnjoyan Institute of fine organic chemistry of NAS RA. It was been isolated 28 flavonoids (25 from which are flavon derivatives) and was been installed denominated counterinflammatory activity of flavonoid mixture of Bienertia cycloptera, characteristic blood coagulatoin stimulating activity of amount flavonoids of Teucrium hyrcanicum. It was been demonstrated also that Helichrisum undulatum can be a substitute of Helichrisum arenarium.

УДК-615.711+616.091.8

ИЗУЧЕНИЕ ТОНИЗИРУЮЩИХ И СТИМУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА “ЛАКСОЗИД” ПРИ ГИПЕРКИНЕЗИИ

Гаспарян Г.В., Мнацаканян В.А., Мкртчян Г.С., Погосян А.Е.

Институт тонкой органической химии им. А.Л. Мнджояна
Медицинский институт им. Меграбяна.

Ключевые слова: гиперкинезия, гистология, надпочечники, тонизирующие и стимулирующие свойства.

Key words: Hipercinezia, Histologia, Tonic and Stimulating activities, Adrenal gland.

Лекарственные средства растительного происхождения в течении многих тысячелетий применяются в народной медицине различных стран.

Большое место среди них занимают тонизирующие и стимулирующие средства.

Китай, Дальный Восток и особенно Армения богаты лекарственными растениями стимулирующего и тонизирующего действия.

К такого рода растениям относятся китайский женьшень, дальневосточный элеутерококк, а также произрастающий в Армении известный растительный адаптоген Лоштак (Bryonia alba L) [1-3].

В настоящее время адаптогены (резистогены) находят широкое приминение в качестве лекарств для здоровых людей с целью повышения общей неспецифической резистентности организма (ОНРО), обеспечивающих высокую работоспособность и здоровое долголетие. [4].

С этой точки зрения проблема регуляции ОНРО в течении последних лет становится актуальной для практической медицины.

Особое значение она преобретает в деле достижения быстрой адаптации организма при различных перегрузках, невесомости, нарушении кислородного обмена и в различных срессовых ситуациях, в связи с расширением космических и подводных исследований.

Учитывая это, изыскание и изучение новых, растительных лекарственных веществ стимулирующего и тонизирующего действия становится одним из важнейших направлений современной фармакотерапии.

В Армении Лоштак белый (Bryonia alba L, Cucurbitaceae) является таким же универсальным лекарственным растением, как женьшень в Восточной Азии.

Нами были выявлены тонизирующие и стимулирующие свойства Лоштака при гиперкинезии, а также адаптогенные свойства при гипокинезии (стресс) [2-5].

Было показано, что веществами, ответственными за тонизирующие свойства корней Bryonia alba L, являются моно- и дигликозиды [3,4] дикукурбитацина D и триоксиоктадекадиеновые кислоты[7]. Все они увеличивают работоспособность мышей в условиях повышенной физической деятельности [1].

В этом плане особый интерес представляет растение коровяк раскидистый (Verbascum laxsum Filar et. Jav. сем. Наричниковых, Sczophulariaceae), из

которого получен экстракт с условным названием “Лаксозид”, являющийся фракцией природных гликозидов, содержащий в качестве главных компонентов производные придиоида аукубина – нигрозид - 1 и нигрозид - 2 [8]. Анализ немногочисленных литературных данных о свойствах Лаксозида показал, что он по своей политогности очень близок к фармакологической активности растительных и биогенных стимуляторов. Поэтому возникла необходимость экспериментально изучить некоторые аспекты фармакодинамики экстракта этого растения.

Сущностью настоящей работы является изучение действия экстракта “Лаксозида” на работоспособность белых мышей в условиях принудительной мышечной деятельности с целью выявления его стимулирующего и тонизирующего свойств.

Параллельно, нами были изучены гистологические и гистохимические характеристики надпочечников, и вилочковой железы (Тимус) при гиперкинезии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводились на белых беспородных мышах весом 20-21г.

Для определения повышения работоспособности в эксперименте, а также стимулирующего и тонизирующего действия была использована установка “бесконечный канат для лазания” [9].

Этот прибор позволяет объективно определить динамическую работу лабораторных мышей в условиях принудительной мышечной деятельности до полного утомления.

После предварительного обучения лазанию по канату вверх (скорость движения каната сверху вниз состовляет 6.0 м/мин), за 1ч до опыта животным перорально вводили 1 мл водно-спиртового раствора Лаксозида в дозах 25 и 50 мг/кг массы тела. Контрольная группа получила по 1мл разбавленного раствора, той же концентрации.

Для сравнения активности изучался также известный отечественный адаптоген “Лоштак” в дозе 10мг/кг массы тела (максимальная активная доза)[10,11].

Для оценки стимулирующего действия экстракта проводили однократное введение, а для оценки тонизирующего действия – ежедневные введения Лаксозида в течение 12 дней в дозах 25 и 50мг/кг массы тела.

Время принудительной мышечной работы измеряли в минутах и выражали в процентах от среднего значения, полученного от животных контрольной группы. Полученные данные статистически обработаны.

После опытов животных декапитировали лабораторной гильотиной. После вскрытия и визуального осмотра внутренних органов и слизистой желудка, определяли массу надпочечников и вилочковой железы (тимус), после чего брали из них кусочки для гистологического исследования. Полученные криостатные срезы окрашивали гистологическими и гистохимическими методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования показали, что экстракт Лаксозид оказывает стимулирующее действие на мышей, увеличивая продолжительность мышечной деятельности до полного утомления в обеих дозах.

Следует отметить, что Лаксозид в дозе 50мг/кг более активен (табл.N1). Под влиянием Лаксозида в дозе 50 мг/кг наблюдается достоверное повышение работоспособности мышей почти в 1,5 раза, что приближается к показателям экстракта Лоштака в дозе 10 мг/кг.

Аналогичные результаты наблюдаются при изучении тонизирующего влияния Лаксозида (табл.N2).

Из таблицы видно, что как Лаксозид, так и Лоштак в дозах 50 мг/кг и 10 мг/кг соответственно повышают работоспособность мышей почти в 2-3 раза.

Таким образом из полученных данных видно, что как Лаксозид, так и Лоштак проявляют почти одинаковое тонизирующее и стимулирующее действие на мышей в условиях принудительной мышечной деятельности.

В настоящее время нами ведутся исследования, позволяющие оценить достоверность этого предположения.

Известно, что повышенная физическая нагрузка вызывает в надпочечниках и тимусе мышей изменения суммарных клеточных липидов и свободных жирных кислот. Под влиянием Лоштака содержание арахидоновой кислоты в надпочечниках увеличивается в 9 раз, а в желудке - в 5 раз, по сравнению с контролем. Установлено, что экстракт Лоштака действует на метаболизм арахидоновой кислоты в тимусе и надпочечниках и это сопровождается блокадой стресс-реакции путем ингибирования холестерол – арахидоната[6].

Учитывая вышеуказанные и другие литературные данные мы провели гистологические исследования надпочечников и тимуса, для выявления морфофункционального характера этих желез под влиянием Лаксозида при гиперкинезии.

После декапитации и макроскопических исследований внутренних органов, определяли массу надпочечников и вилочковой железы. Как надпочечник, так и вилочковая железа фиксировали в жидкость Карнуа и в формалине с последующей окраской срезов гистологическими и гистохимическими методами: гемотоксилин - эозином по Браше, а также н а липиды – суданом IV и суданом черным Б [12].

Предварительные гистологические исследования показали, что у контрольных животных на фоне резкого полнокровия и расширения капилярных синусоидов, в пучковой и сетчатой зонах встречаются очаговые кровоизлияния, явление цитолиза, а также очагового некроза.

Во всех зонах наблюдаются процессы частичной и полной делипоидизации, уменьшение числа темных клеток, что по–видимому, отражает процесс напряженной секреции при чрезмерной гиперфункции коры надпочечников на грани перехода в стадию истощения.

Представляет интерес также изучение вилочковой железы, так как вилочковая железа является первичным регулятором иммунных процессов в организме и основным органом лимфогенеза.

В наших исследованиях у контрольных животных в вилочковой железе наблюдаются усиление деструктивных и дистрофических процессов. Перегородки между инфильтрирующими лимфоцитами местами отсуствуют.

Встречаются структурные изменения как в корковом, так и в мозговом слоях железы. Местами происходит разрушение тимоцитов, что ведет к просветлению коркового слоя вилочковой железы.

Эти изменения отражают имунологическую перестройку органа [13].

Под влиянием Лаксозида и Лоштака, по сравнению с контрольными животными, наблюдается снижение гипертрофических процессов в надпочечниках и уменьшение инволютивных процессов в вилочковой железе. Исходя из этого, можно предположить, что сравнительная задержка инволюции вилочковой железы под влиянием Лаксозида связана с возможным экономичным функционированием коры надпочечников. Логичность такого предположения подтверждается тем, что задержка гипертрофических и инволютивных процессов сопровождается заметным увеличением липидных включений во всех зонах коры надпочечников.

Табл.N 1

Стимулирующее свойство Лаксозида при гиперкинезии

N / N	Группы животных	Кол.-во жив.	Доза мг/кг	Продолжительность бега		P <
				мин	%	
1	Контроль	20	Спиртовый р-р	15,2±1,01	100%	
2	Опытн. Лаксозид	20	25 мг/кг	22,6±1,02	148,7%	< 0,001
3	Опытн. Лаксозид	20	50 мг/кг	23,4±0,8	153,9%	< 0,001
4	Опытн. Лоштак	20	10 мг/кг	23,8±1,02	156,6%	< 0,01

Таким образом, приведенное фармакологическое и морфологическое изучение действия Лаксозида на отдельные органы и системы организма показало, что это вещество на большинстве изученных тестах оказалось весьма эффективным. Значительное ослабевание структурных изменений надпочечников и вилочковой железы, сохранение липидных включений в коре надпочечников, удержание белых мышей на “ бесконечной канате”, увеличение физической работоспособности под влиянием Лаксозида свидетельствует о его стимулирующих и тонизирующих свойствах.

Табл.N 2

Тонизирующее свойство Лаксозида при гиперкинезии

N / N	Группы животных	Кол.-во жив.	Доза мг/кг	Продолжительность бега		P <
				мин	%	
1	Контроль	20	Спиртовый р-р	14,9±2,1	100%	
2	Опытн. “Лаксозид”	20	25 мг/кг	31,2±2,01	209,4%	< 0,01
3	Опытн. “Лаксозид”	20	50 мг/кг	34,2±1,92	230,2%	< 0,001
4	Опытн. Лоштак	20	10 мг/кг	34,9±2,4	234,2%	< 0,001

Литература

1. Пашинян С.А. Гаспарян Г.В. Паносян А.В. Мкртчян Г.С. В кн. ,,Новые данные об элеутерококке и др. адаптогенах ” Владивосток .1981 стр. 149-154
2. Гаспарян Г.В. Мкртчян Г.С., Мнацаканян С.Х., Погосян А.Е. - Взаимосвязь химическая структура – биологическая активность. Ереван 1998. стр 251-258
3. Pashinian S.H., Gasparian H.Y. etal – Planta medica 1980 v 39, N3, 254p.
4. Брехман И.И. – Новые данные об элеутерококе и других адаптогенов. Владивосток. Изд. АН СССР 1986, с.7
5. Гаспарян Г. В., Пашинян С.А. – “К вопросу о воздействии экстракта корней переступня белого на морфофункциональное состояние внутренных органов у крыс при гипокинезии” – V съезд фармакологов, Ереван, 1982
6. А.Г.Паносян, С.А. Пашинян - “Влияние тонизирующих веществ из корней Bryonia alba L на содержание арахидоновой кислоты в надпочечниках и тимусе мышей при физической утомлении. В кн. Новые данные об элеутерококке и других адаптогенах – Владивосток 1981, стр. 143-148
7. Паносян А.Г. и др – Ненасыщенные кислоты с простогландиноподобной активностью из Bryionia alba L. – Биоорганическая химия , 1979 а т.5, N 2, с 242-253
8. Мнацаканян В.А., Ширинян Э.А. и др. –“Ириодные гликозиды видов Verbascum Армении. Структура и биол. активность”. Сб. тр. ИТОХ НАН РА “О связи между хим. строением и биологической активностью, 1998, Ереван, с. 210-216
9. Брехман И.И. и авт. –“Элеутерококк” Л. 1968
10. Гаспарян Г.В. - “Морфофункциональное состояние надпочечников крыс при гипокинезии и на фоне влияния Лоштака” Кандид. дисс., Москва, 1990
11. Самвелян В.М., Пашинян С.А. и авт. - “Лоштак белый” Ереван, 1989, с.23
12. Лилли Р.- “Патогистологическая техника и практическая гистохимия” с. 421-454.
13. Кемилева З. - “ Вилочковая железа”, София 1979, с.252

«Լաքսազիդ» բուսական թուրմի տոնուսացնող և ստիմուլացնող հատկությունների ուսումնասիրություններ հիպերկինեզիայի պայմաններում

Գասպարյան Հ.Վ., Մնացականյան Վ.Հ., Մկրտչյան Գ.Ա., Պողոսյան Ա.Ե.
Նուրբ օրգանական քիմիայի ինստիտուտ

Պարզվել է, որ Հայաստանում աճող Verbascum Laxum Filer et Jat. ընտանիքին պատկանող բույսից անջատված «Լաքսազիդ» անունը կրող թուրմը ունի արտահայտված տոնուսացնող և ստիմուլացնող հատկություններ 25 և 50 մգ/կգ դոզաներում:

Researches of tonic and stimulating properties of “ Laxazide” herbal extract in Hipercinesia

Gasparyan H.V., Mnatsakanyan V.H., Mkrtchyan G.S., Pogosyan A.E.

Institute of Fine Organic Chenistry of NAS of Armenina

It has been found that herbal extrackt of Verbascum Laxum Filer et Jat. growing in Armenia, which is preliminary named “ Laxazide”, has shown marked tonic and stimulating activities in of 25mg/kg and 50mg/kg doses.

E.N. Garabedian, N. Loundon, N. Verhille, A. Pierre, S. Marlin

ENT, Hôpital d'enfants Armand Trousseau, Paris, France

Key words: cochlear inplantation, Usher syndrome, areflexia.

Aims: The aim of this study is to evaluate the impact of Usher syndrome on results after cochlear implantation, and to discuss the specificity of the rehabilitation.

Population and method: Among 370 implanted children, 19 had Usher syndrome (5%); 14 of them that had less than 14 years and more than 9 months follow up and were included (gUsh). Mean age at implant was 4.3 years; mean follow up was 4.2 years. 4 children were implanted after 66 months (gUsh2). Their results were compared to a control group (gC) of 14 implanted children matched in age and follow up. The perception was evaluated in open set words (OW) and sentences (OS), oral language in production and EVIP scores, and praxis. Results were compared in the 2 groups, and between the 2 sub group of Usher (gUsh1 and gUsh2).

Results: gUsh had respectively for OW and OS 44,4% and 44% perception scores versus 64% and 51% in gC ($p>0,05$). The EVIP scores showed 51.8/160 in gUsh versus 55.8/160 in gC ($p>0.05$). The praxis scores (lingual motility) showed 7.6 in gUsh versus 9.1 in gC ($p=0.03$). Comparison within gUsh showed respectively for OW and OS 56.5% in gUsh1 versus 0% in gUsh2, and 54.5% in gUsh1 and 6.6% in gUsh2, EVIP scores were 65/160 in gUsh1 and 0/160 in gUsh2.

Discussion: Results in gUsh were similar to gC for level of perception and language level. Praxis were lower in gUsh. Implications of the vestibular areflexia in those results are discussed. Late implantation was a strong negative factor in all domains.

Conclusion: Early implantation in Usher syndrome is of most importance to enhance results. Difficulty in lingual praxis must be detected and intensively rehabilitated. The role of the areflexia on different slope of motility must be explored furthermore.

ОСОБЕННОСТИ ВЕСТИБУЛЯРНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С КОНДУКТИВНОЙ И СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТЬЮ.

А.К. Шукурян, М.Х. Назарян

Отделение ЛОР, МЦ "Эребуни"

Ключевые слова: головокружение, кондуктивная, сенсоневральноая тугоухость
Key words: dizziness, conductive and sensorineural hearing loss

Хроническое гнойное воспаление среднего уха занимает второе место в структуре оториноларингологической заболеваемости (И.Б. Солдатов,1990). Хроническое гнойное воспаление среднего уха вызывает стойкие патологические изменения слизистой оболочки и костной ткани, приводящие к нарушению его трансформационного механизма. Принято считать (И.Б. Солдатов, В.Р.Гофман, 2001), что хронический гнойный средний отит чаще всего развивается на почве затянувшегося острого среднего отита. К числу факторов, способствующих этому, относят хронические инфекции, патологию верхних дыхательных путей с нарушением носового дыхания, вентиляционной и дренажной функции слуховой трубы, неправильное и недостаточное лечение острого отита. Помимо выше перечисленных факторов, переходу острого гнойного воспаления среднего уха в хроническое способствует понижение реактивности организма.

Под нашим наблюдением в ЛОР-отделении М.Ц.»Эребуни» находились 79 больных с кондуктивной тугоухостью, из них у 52 больных был выявлен хронический мезотимпанит, у 27 больных – хронический эпитимпанит. 41 больной страдал

сенсоневральной тугоухостью. По возрасту и полу больные распределенны следующим образом (см. табл. №1)

Таблица №1

Распределение больных по возрасту и полу

	М	**Ж**	**Общее количество**
Количество больных	53	67	120
Возрастные группы до 10	1	-	1
10-20	5	4	9
20-30	9	11	20
30-40	11	17	28
40-50	7	13	20
50-60	13	15	28
60-70	5	5	10
70 и старше	2	2	4

Из 52 больных с хроническим мезотимпанитом, у 42 больных были выявлены стволовые вестибулярные и мостомозжечковые нарушения. Из 27 больных с хроническим эпимезотимпанитом, у 24 больных были стволовые вестибулярные и мостомозжечковые нарушения.Клиническое распределение больных представленно в табл.№2

Длительность хронического мезотимпанита в среднем составляла от 3 месяцев до 10 и более лет. В анамнезе помимо снижения слуха, наличия шума, выделений из ушей (различного характера), головной боли,37 больных отмечали головокружение системного и несистемного характера. В ходе отоневрологического обследования у 30 больных выявились нарушения функции черепно-мозговых нервов (5-го, 7-го, 9-го, 13-промежуточного).У 35 больных выявились статокинетические нарушения. Спонтанный нистагм был выявлен у всех больных, в основном горизонтальный, различной амплитуды (средне-, крупноразмашистый),1-ой или2-ой степени. Оптокинетический нистагм лишь у 3-х больных был ослаблен в нескольких напрвлениях.

Экспериментальные вестибулярные пробы у половины больных проявляли гиперрефлексию экспериментального нистагма с вегетативной гиперестезией,а у остальных - гипорефлексию.

20 больных хроническим эпимезотимпанитом из 24 отмечали головокружение, некоторые - тошноту. В ходе отоневрологического исследования у половины больных с хроническим эпимезотимпанитом также выявились нарушения функции черепно-мозговых нервов (преимущественно промежуточного -13-го). У 19 больных выявились статокинетические нарушения. Спонтанный нистагм был выявлен у всех больных, в основном горизонтальный, различной амплитуды (средне-, крупноразмашистый),1-ой или2-ой степени. Оптокинетический нистагм был равномерный и неизменен у всех больных. Экспериментальные вестибулярные пробы у половины больных проявляли гиперрефлексию экспериментального нистагма с вегетативной гиперестезией,а у остальных - гипорефлексию.

Таблица №2

Распределение больных по заболеваниям

	М	**Ж**	**Общее количество**
Хронический мезотимпанит со стволовыми вестибулярными и мостомозжечковыми нарушениями	29	13	42
Хронический мезотимпанит без вестибулярных нарушений	4	6	10
Хронический эпимезотимпанит со стволовыми вестибулярными и мостомозжечковыми нарушениями	9	15	24
Хронический эпимезотимпанит без вестибулярных нарушений	2	1	3
Сенсоневральная тугоухость со стволовыми вестибулярными и мостомозжечковыми нарушениями	19	15	34
Сенсоневральная тугоухость без вестибулярных нарушений	3	4	7

Из обследованных больных с сенсоневральной тугоухостью у большинства была выявлена вестибулярная симптоматика, проявляющаяся головокружением, у некоторых больных односторонним выпадением вкуса на передней 2/3 языка, статокинетическими нарушениями, наличием спонтанного горизонтального нистагма, по амплитуде мелко-, среднеразмашистого,усиливающимся при перемене положения головы.Экспериментальные вестибулярные пробы у большинства больных выявили гипорефлексию, а у остальных - норморефлексию эксперимкнтального нистагма.

Таким образом, у большинства больных с кондуктивной и сенсоневральной тугоухостью выявлены вестибулярные изменения в той или иной степени, что является основанием для назначения этим больным необходимой адекватной терапии в комплексном лечении указанных нозологий, и обосновывает раннюю диагностику этих нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. И.Б. Солдатов, 1990, Лекции по оториноларингологии.
2. И.Б. Солдатов, В.Р. Гофман, 2001, Учебник оториноларингологии.

Սենսոնևրալ և կոնդուկտիվ ծանրալսությամբ հիվանդների մոտ վեստիբուլյար խանգարումների առանձնահատկությունները

².Ì. Üóùóïٱ±Û, Ö.È. Ú±»±ïٱ±Û
øÅÁ-ÍßÍßï·-±Í±Ûå±³±ÛóÁٱ±Û ³±Ã±Û×óÛù, «½ï¹³óÛÅ» ²Ì.

Î¹í±»ßí ë±Ë ½ ë¹éíÅ³óÇٱï ±Û±ÇÅ»±íßïÅ ëÅÕ±Í¿ 120 սենսոնևրալ և կոնդուկտիվ ծանրալսությամբ հիվանդների մոտ: ÚÍ±ï±µïë±Ë ½ ¿éí í±ïÅùÅ, é¹çÅ¯ ÏÅë±Û·óÁٱÛ í¹é±ÍÅ éíßï±³±Ã±Ûë±Ë ÏÅë±Û·Û¹ïÅ ×ßí ë¹éíÅ³óÇٱï É±Ûµ±ïó×Û¹ïÅ ³ÛóٱÁ¿¯ ±éíÅÕ±Û¿: °ٱéí¹ÓÅñ ³Éó×½ÛÝë±Ë É±Ûµ±ïó×Û¹ïÅ ë±Ó±É íßïßÝó×±Û¯±·¹Íë±í ³óÃ×±Û ±ÛÏï±Ã¹Ýíóٱóۿ:

Characteristics of vestibular disorders in patients with conductive and sensorineural hearing loss

A.K. Shukuryan, M.Kh. Nazaryan
ENT department of the M.C. “Erebuni”

Characteristics of vestibular disorders was studied in 120 patients with conductive and sensorineural hearing loss. All patients grouped by age, gender and type of diseases. It is suggested the necessity of early diagnoses of these disorders and appropriate treatment.

ЛОКАЛЬНЫЙ ФАКТОР РИСКА ОККЛЮЗИИ СОСУДИСТЫХ АРКАД СЕТЧАТКИ

Григорян Г. Л., Шахсуварян М. Л

Ключевые слова: сетчатка,сосудистые аркады,окклюзия,фактор риска.
Key words: retinal vein occlusion, risk faktor.

За последние 15 – 20 лет патология сетчатки и зрительного нерва приобрела первостепенное значение в офтальмологии, являясь основным этиологическим и патогенетическим фактором слепоты, слабовидения и инвалидности по зрению не только среди пожилых людей, но и в более молодых возрастных группах(2). Именно этим обосновывается необходимость и интенсификация работы по данной проблематике, которая имеет не только медицинское, но и огромное социальное значение.

Пристальное внимание, уделяемое такому заболеванию, как тромбоз ретинальних вен впервые описанный Лебером в 1857 году, объясняется тем, что данный вид поражения составляет 60% всей острой сосудистой патологии органа зрения и занимает второе место после диабетической ретинопатии по тяжести поражения сетчатки и прогнозу(1,3,4).

Трудность профилактики и лечения окклюзий ретинальных вен заключается в том, что в основе развития этого заболевания лежат различные факторы и патогенетические звенья, а также потому, что в большинстве случаев поражение вен сетчатки - проявление более глубоких изменений, развивающихся в макроорганизме. В связи с этим правильний выбор препаратов, необходимых для лечения больных с флеботромбозами сетчатки, напрямую зависит от знания этиологии и патогенеза этого заболевания.

В настоящее время проводятся многочисленные исследования, посвященые патогенезу, клинике окклюзий ретинальных вен, однако вопросам эпидемиологии уделяется недостаточно внимания, отсуствует стандартный подход к ее изучению, в связи с чем полученные сведения недостаточны.

В современной офтальмологии общепринятым является дифференцированный подход к тромбозу вен сетчатки с учетом локализации окклюзионного процесса: стволовой флеботромбоз и оккклюзия сосудистых аркад сетчатки(3,5). Все вышеизложенное послужило основанием для проведения собственного исследования по эпидемиологии окклюзии сосудистых аркад сетчатки, в частности поиска локального фактора риска, предрасполагающего развитие данного заболевания.

Цель работы - выявить наличие взаимосвязи первичной глаукомы и окклюзии сосудистых аркад с учетом классификационных характеристик глаукомы, а именно: формы, стадии, уровня офтальмотонуса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В нашем исследовании анализу были подвергнуты данные 158 больных с окклюзией сосудистых аркад. По признаку возрастной принадлежности все

больные были разделены на 5 груп: 31 – 40;. 41 – 50; 51 – 60; 61 – 70; старше 70 лет. Выделена подгруппа с диагностированной первичной глаукомой. Последняя подразделена по форме на: открыто-, узко- и закрытоугольную, по стадиям: I – IV ; по уровню офтальмотонуса: 18 – 27 мм рт. ст.; 28 – 32 мм рт. ст.; более 32 мм. рт. ст.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с определением значимости различий по критерию Стъюдента. Для установления достоверной разницы показателей с надежностью в 95% необходимым являлось значение коэффициента достоверности t, превышающее 2. По общепринятым формулам таже вычислялись: P – показатель заболеваемости глаукомой у больных с окклюзией сосудистых аркад. m- средняя ошибка показателя заболеваемости, CI – доверительные границы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе всех случаев окклюзии сосудистых аркад сетчатки больных мужчин было 68 (43%), женщин 90 (57%). Средний возраст больных составил 59,7 лет. Тромбоз темпоральной ветви центральной вены сетчатки (ЦВС) наблюдался у 126 больных (79,7%), а назальной у 32 больних (20,3%).

Основываясь на принятой в настоящее время расширенной классификации флеботромбозов сетчатки (3,5) с учетом анатомической локализации окклюзионого процесса с выделением случаев тромбоза двух ветвей ЦВС , в нашем исследовании диагноз гемицентрального тромбоза ЦВС верхне – темпоральной и верхне – назальной ветвей был установлен у 7 больных, а гемисферического - у 6 больных, из которых только у одного имелся тромбоз назальной ветви, в остальных случаях окклюзионный процесс локализовался в темпоральной ветви. . Поражение двух ветвей ЦВС составило 2,3% от общего числа окклюзий сосудистых аркад.

Первичная глаукома была диагностирована у 13 больных (8,2%). После расчета показателей выявлено наличие взаимосвязи первичной глаукомы с окклюзией сосудистых аркад сетчатки P =12,5; m= ±I, 5; CI от 11,1 до I4 ,1.

Согласно общепринятой классификации первичной глаукомы открыто-угольная глаукома наблюдалась у 11 больных (7%), узкоугольная и закрытоугольная соответственно у двух больных, т.е. при наличии первичной глаукомы, в подавляющем большинстве случаев – 84,6 %, последняя была представлена открытоугольной формой.

Для установления достоверности полученной разницы показателей вычислен коэффициент достоверности t, равный 10,7, что свидетельствует о статистически значимой разнице в преобладании открытоугольной глаукомы по сравнению с узкоугольной и закрытоугольной формами. Оценено наличие связи при открытоугольной глаукоме (ОУГ) – P = 10,4; m= ±1,4; CI от 7,6 до 13,2, и отсуствие таковой при узкоугольной (P=1,52; m = ±0,6; CI от 0,32 до 2,72), а также закрытоугольной глаукомы (P=0,65; m=± 0,37; CI от 0,28 до 1,02), в случаях сочетания с окклюзиями сосудистых аркад.

С целью выяснения наличия или отсутсвия зависимости между частотой окклюзии сосудистых аркад сетчатки и стадией глаукоматозного процесса был вычислен показатель заболеваемости в каждой из выделенных трех групп : I стадия (P=39,6; m= ±6,4; CI от 26,8 до 52,4), II стадия (P=24,1; m= ±5,6; CI от

12,9 до 35,3), III стадия (P=32,7; m= ±6,2; CI от 20,3 до 45,1). Больные с тромбозом ветви ЦВС и IV стадией первичной глаукомы не выявлены. Статистически достоверна взаимосвязь с I-II стадиями глаукомы. Оказалась недостоверной разница в частоте окклюзии сосудистых аркад при I и II стадиях глаукомы. (t = 1,82).

В соответствии с уровнем офтальмотонуса выявлена достоверная связь при внутриглазном давлении в пределах 18-27 мм рт. ст. Офтальмотонус на уровне 18-27 мм рт. ст. у больных первичной глаукомой встречался в 2 раза чаще, чем на уровне 28-32 мм рт. ст., а также в 8 раз чаще, чем на уровне, превышающем 32 мм рт. ст. (p <0,05).

Зарегистрировано увеличение с возрастом частоты глаукомы, сочетающейся с окклюзией сосудистых аркад сетчатки (t = 4,9).

Имеющиеся в современной литературе сведения о сопуствующей тромбозу ветви ЦВС офтальмопатологии, представленной глаукомой (6-10), не отражают типы и стадию первичной глаукомы, а также уровень офтальмотонуса при возникновении окклюзии.

Из полученных данных вытекает закономерность горизонтальной (по форме) и вертикальной (по глубине процесса) связи глаукомы с окклюзией сосудистых аркад сетчатки. Основным фактором, способствующим развитию как тромбоза ветви ЦВС, так и ОУГ, по мнению Saninotu M. (9), является замедление кровотока, а Sonsjio B. с соавт.(10) полагают, что эндотелиальные пролиферации в ретинальных венах вызывают прогрессивное увеличение сопротивляемости кровотоку в обоих случаях.

ВЫВОДЫ

1. Проведенный анализ выявил, что первичная глаукома является локальным фактором риска окклюзии сосудистых аркад сетчатки.
2. Установлена статистически достоверная взаимосвязь тромбоза ветви ЦВС и первичной открытоугольной глаукомы в I-III стадиях глаукоматозного процесса при уровне офтальмотонуса 18-27 мм рт. ст.
3. Обоснована необходимость детального обследования больных с окклюзией сосудистых аркад сетчатки с целью выявления первичной глаукомы, предрасполагающей к возникновению тромбоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кацнельсон Л. А., Форофонова Т.М., Бунин А.Я. Сосудистые заболевания глаз // М.: Медицина.-1990.-с.126-137.
2. Нероев В.В. Новые аспекты проблемы патологии сетчатки и зрительного нерва // Вестн. Офтальмол. – 2000, N 5. – с. 14-16
3. Танковский В.Э. Тромбозы вен сетчатки // 4-й филиал Воениздата. – М.,2000.
4. Тарасова Л.Н. Киселева Т.Н., ФокинА.А. Глазной ишемический синдром // М.; Медицина.-2003.-с.106-119.
5. Hayer S., Zimmerman B., Podhajsky P. Hematological abnormalities associated with various types of retinal vein occlusion // Graefes. Arch. Clin Exp. Ophtalmol.-2002.-vel.240, N3.-p.180-196.
6. Hirota A., Mishima H.K., Kiuchi Y. Incidence of retinal vein occlusion at the Glaucoma // Clinic of Hiroshima University Ophthalmologic. –1997.-Vol.211, N3.-p.288-291.
7. Moroi S.E., Gottfredsdotter M.S., Scheingart M.T., Elner S.G., Lee C.M., Schertzer R.M., Abrams G.W., Johnson M.W. Gystoid macular edema associated with latanoprest therapy in a case series of patients with Glaucoma and ocular hypertension // Ophthalmology.-1999.- Vol.106, N10.-p.1024-1029.
8. Lindblom B. Open angle Glaucoma and non central retinal vein occlusion- the chicken or the egg? // Acta Ophthalmol. Scand.1998. Vol.76. N, p.329-333
9. Soninoti M. The relation between retinal veneus occlusion and Glaucoma.//Ophthalmology. 1992. Vol.36, N2, p.163-171
10. Sonnjio B., Krakau C.E. Arguments for vascular Glaucoma etiology// Acta Ophthalmol. Copenh. 1993. Vol.71 N4, p.933-944.

LOCAL RISK FACTOR IN BRANCH RETINAL VEIN OCCLUSION

G. L. Grigoryan, M. L. Shahsuvaryan

Purpose. To reveal relationship between primary glaucoma and branch retinal vein occlusion (BRVO) taking into account the classification subdivision, specifically: type, stage, level of intraocular pressure (IOP).

Methods. One hundred and fifty-eight patients with BRVO aged 30 years and older were examined, from which the study group of patients suffering from primary glaucoma were separated. The Student's t-test and confidence interval (CI) were used for statistical analysis.

Results. Primary glaucoma was diagnosed in 8,2% of patients with BRVO, basically represented by primary open-angle glaucoma (POAG) –84,6% of the whole primary glaucoma cases. Statistically significant relationship was revealed between BRVO and POAG in I-III stages and also 18-27 Hg IOP level.

Conclusion. Primary glaucoma is a local risk factor for BRVO. Patients suffering from BRVO will undergo the comprehensive examination to reveal primary glaucoma at early stage.

ՏԵՂԱՅԻՆ ՎՏԱՆԳԻ ԳՈՐԾՈՆ ՑԱՆՑԵՆՈՒ ԿԵՆՏՐՈՆԱԿԱՆ ԵՐԱԿԻ ՃՅՈՒՂԵՐԻ ԽՑԱՆՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Գ.Լ. Գրիգորյան, Մ.Լ. Շահսուվարյան

Նկատի ունենալով գլաուկոմայի դասակարգման չափորոշիչները՝ տեսակ, շրջան, ներակնային ճնշման մակարդակ, հետազոտման նպատակն է հայտնաբերել ցանցենու կենտրոնական երակի ճյուղերի խցանման և առաջնային գլաուկոմայի միջև ընկած կապը:

Ուսումնասիրության համար ընտրվել են 158 հիվանդներ 30 տարեկանից բարձր և առանձնացվել է գլաուկոմայով տառապող հիվանդների խումբ: Ստատիստիկ վերլուծության համար օգտագործվել է Ստյուդենտի տեստը և վստահության սահմանները:

Առաջնային գլաուկոման ախտորոշվել է ցանցենու կենտրոնական երակի ճյուղերի խցանմամբ 8,2% հիվանդների մոտ, մասնավորապես բաց-անկյուն - 84,6% բոլոր գլաուկոմայով տառապող հիվանդներից: Հայտնաբերվել է կայուն ստատիստիկ կապ ցանցենու կենտրոնական զարկերակի ճյուղերի խցանման և 18-ից 27մմ ս.ս. հավասար ներակնային ճնշման, I-II շրջանների բաց-անկյուն գլաուկոմայի միջև:

Պարզվել է, որ առաջնային գլաուկոման հանդիսանում է ցանցենու կենտրոնական երակի ճյուղերի խցանման տեղային վտանգի գործոն: Հետևաբար, առաջնային գլաուկոման վաղաժամ շրջանում ախտորոշելու համար անհրաժեշտ է մանրակրկիտ հետազոտել ցանցենու կենտրոնական երակի ճյուղերի խցանմամբ բոլոր հիվանդներին:

УДК 579.873.13.086.3

ПРОЯВЛЕНИЯ ПРЕБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИНУЛИНА ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ КОРНЯ ЛОПУХА БОЛЬШОГО (*ARCTIUM LAPPA*) *IN VITRO*

***Оганесян Г.Г.*[1,2], Топчян А.В.[2], Барсегян А.А.[1], Ревазова Л.В.[2], Григорян Н.Г.[1], Багумян Р.М.[2]**

Институт микробиологии НАН РА,378510 Армения, г. Абовян, ул.Арзни 2, E-mail:hhov@sci.am [1]

Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци, 375025 Армения, г. Ереван, ул. Корюна 2 [2]

Ключевые слова: пребиотик, пробиотик, инулин, Лопух большой

Key words: prebiotic, probiotic, inulin, Burdock common.

В настоящее время биологически активные вещества применяются для улучшения функционирования пищеварительного тракта, регуляции микробиоценоза желудочно кишечного тракта (ЖКТ), профилактики и лечения некоторых специфических инфекционных заболеваний. ЖКТ подразделяют на диетические добавки, функциональное питание, пробиотики, пребиотики, синбиотики, бактериофаги и биотерапевтические агенты. Применение пробиотиков и пребиотиков приводит к одному и тому же результату – увеличению числа молочнокислых бактерий, естественных обитателей кишечника.

К пребиотикам относятся неперевариваемые ингредиенты пищи, которые способствуют улучшению здоровья за счет избирательной стимуляции роста и/или метоболической активности одной или нескольких групп бактерий, обитающих в толстой кишке. Чтобы компонент пищи был классифицирован как пребиотик, он не должен подвергатся гидролизу пищеварительными ферментами человека, не должен абсорбироваться в верхних отделах пищеварительного тракта, однако должен являться селективным субстратом для роста и/или метаболической активации одного вида или определенной группы микроорганизмов, заселяющих толстый кишечник, приводя к нормализации их соотношения [3-6].

Один из широко применяемых пребиотиков – инулин, выделяют из клубней или корней различных растений: топинамбура, цикория и других [7]. Нами разработана технология получения инулина соответствующего фармакопейным статьям Британии из корней лопуха большого (ИЛБ)[2].

Было изучено влияние выделенного из ЛБ инулина на рост и накопление биомассы у *L. acidophilus* ИНМИА-9602.

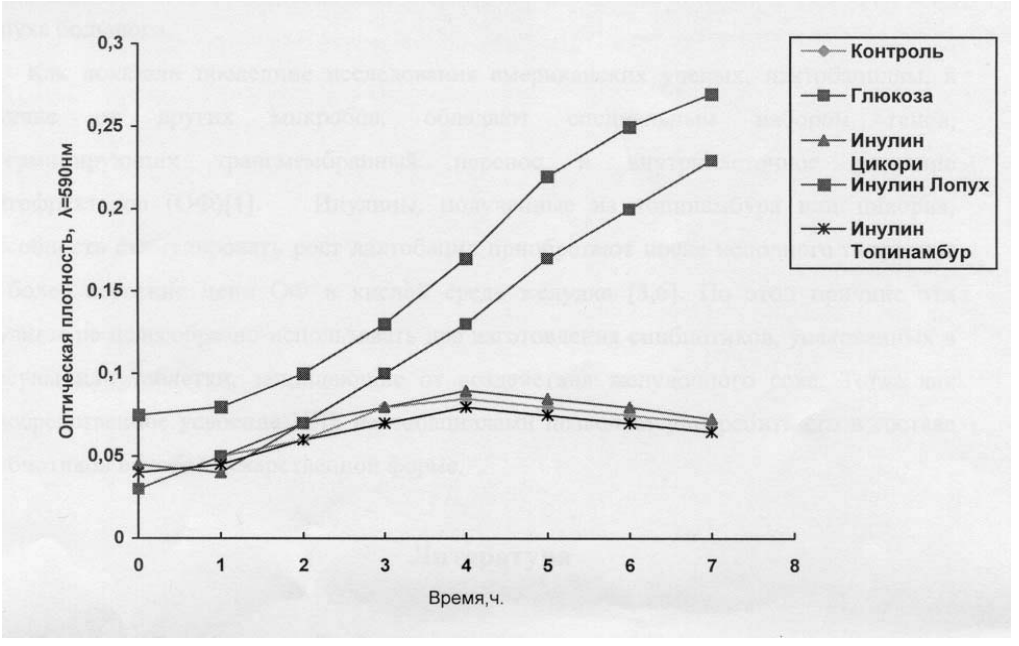


Рис. Динамика роста культуры *L. acidophilus* ИНМИА-9602 в бульоне MRS-G содержащем инулины выделенные из различных растений

Опыты проводились в полноценном бульоне MRS, не содержащем глюкозы(MRS-G). В колбы Эрлеимейера (250мл), содержащие по 20мл MRS-G добавляли в отдельности по 10мг/мл глюкозы, ИЛБ, инулина, полученных из цикория или топинамбура (Serva). В контрольную колбу ничего не добавляли. Колбы инокулировали по 0,5 мл суточной культурой ИНМИА-9602 и инкубировали при 37 ^{0}C на водяной качалке. Рост культур оценивали по оптической плотности на КФК-2МП при длине волны 590 нм. Кривые роста культур представлены на рисунке.

Как видно из рисунка, культура, растущая на ИЛБ, не только не уступает, но заметно опережает рост культуры на глюкозе. Как и у контрольной культуры, рост культур на инулинах, выделенных из цикория и топинамбура, через 3 часа останавливался. Как следует из полученных данных, инулины не обладают стимулирующим рост лактобацилл действием и не утилизируются с их стороны. В то же время пребиотический характер действия ИЛБ был доказан отсутствием стимуляции роста и усвоения кишечной палочкой. Механизм специфической стимуляции роста лактобацилл ИЛБ , возможно, связан с более низкой молекулярной массой инулина Лопуха большого.

Как показали последние исследования американских ученых, лактобациллы, в отличие от других микробов, обладают специальным набором генов, детерминирующих трансмембранный перенос и внутриклеточное усвоение олигофруктанов (ОФ)[1]. Инулины, полученные из топинамбура или цикория, способность стимулировать рост лактобацилл приобретают после неполного гидролиза на более короткие цепи ОФ в кислой среде желудка [3,6]. По этой

причине эти инулины не целесообразно использовать для изготовления синбиотиков, упакованных в капсулы или таблетки, защищающие от воздействия желудочного сока. В то же время непосредственное усвоение ИЛБ лактобациллами позволяет употребить его в составе синбиотиков в любой лекарственной форме.

Литература

1. Barrangou R., Altermann E., Hutkins R., Cano R., Klaenhammer R., Functional and comparative genomic analyses of an operon involved in fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus acidophilus.* PNAS, 2003: v. 100, p. 8957-8962.
2. British herbal Pharmacopoeia, London British Herbal Association,1997
3. Collins M.D., Gibson G.R., Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. The American Journal of Clinical Nutrtion, 1999: v. 69, p. 1052-1057.
4. Gibson G. R., Dietary moduletion of human gut microflora using the prebiotics, oligofructose and inulin. J Nutr., 1999: v. 129, Suppl., p.1438-1441.
5. Kailasapathy K. A., Chin J., Survival and terapeftic potential of probiotic organisms with referens to Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp., Immulon Cell Biol., 2000, v. 78, p. 80-88.
6. Roberfroid M. B., Prebiotics and probiotics: are they functional foods? Am. J. Clin. Nutr., 2000, v. 71, Suppl., p. 1682-1687.
7. Steven Foster and Duke Games A., Medical Plants and Herbs, New York 2000.

Կռատուկ մեծի (*Arctium lappa*) արմատից ստացված ինուլինի պրեբիոտիկային հատկությունների *in vitro* ցուցաբերումը

Հովհաննիսյան Հ. Գ.[1,2], Թոփչյան Հ. Կ.[2], Բարսեղյան Ա. Հ.[1],
Ոնազովա Լ.Կ.[2], Գրիգորյան Ն.Գ.[1], Բաղումյան Ռ.Մ.[2]

ՀՀ ԳԱԱ Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք. Աբովյան, Արգնու 2, E-mail:hhov@sci.am[1]

Մխիթար Հերացու անվան Երևանի պետական բժշկական համալսարան, 375025, ք. Երևան, Կորյունի 2[2]

Մշակվել է Կռատուկ մեծի արմատներից ինուլինի ստացման եղանակը և բացահայտվել է նրա ազդեցությունը *Lactobacillus acidophilus* ԻՆՄԻԱ-9602 «Նարինե»-ի աճի և կենսագանգվածի վրա *in vitro*:

In vitro expression of prebiotic properties of inulin obtained from roots of Burdock common's **(*Arctium lappa*)**

Hovhannisyan H.G.[1,2], Topchyan H.V.[2], Barseghyan A.H.[1], Revazova L.V.[2], Grigoryan N.G.[1], Baghumyan R.M.[2].

Institute of Microbiology NAS RA, 2 Arzni, Abovyan 378510, Armenia, E-mail:hhov@sci.am [1]

Yerevan State Medical University after M. Heratsy, 2 Koryun, Yerevan 375025, Armenia [2]

Method of obtaining inulin from roots of Burdock common is elaborated and it's influence on growth rate and biomass yield of *Lactobacillus acidophilus* INMIA-9602 "Narine" *in vitro* has been studied.

МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДИНАМИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА РЯДА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

С. Г. Налбандян, Г. Р. Хачатрян

Ереванский Государственный Медицинский университет им. М. Гераци

Ключевые слова: многофункциональный, медико–биологический, биообъект, неинвазивно.
Key words: multifunctional, medico – biological, bioobject, non – invasive.

Разработка и внедрения в повседневную экспериментальную практику технических средств, позволяющих получать информацию о состоянии биообъекта, остается актуальной научной, медицинской и технической проблемой. Общей тенденцией современного этапа диагностики функционального состояния органов и систем биообъекта является получение максимума информации при минимальном воздействии на биообъект.

Анализ тенденции развития современного медико-биологического приборостроения свидетельствует, что в последные годы особо пристальное внимание уделяется аппаратурным комплексам, способствующим неинвазивному осуществлению динамического мониторинга биологических параметров функционирующего органа в процессе эксперимента.

Разрабатываемый нами комплекс представляет собой сопряженный с компьютером многоканальный полиграф, осуществляющий регистрацию следуюших показателей жизнедеятельности биообъекта:

1. Кардиограмма
2. Частота и амплитуда дыхания
3. Ректальная температура
4. Венозное и артериальное давление
5. Объемная скорость местного мозгового кровотока (А.С.№1334412)
6. Динамика поведения пиальных сосудов головного мозга (А.С.№1367694)
7. Концентрация гемоглобина, оксигемоглобина в крови.
8. Динамика изменения сократительной функций сердца эмбрионов птиц и рептилий в процессе онтогенеза (А.С.№1597173).

Ниже описываются методики, по которым проводят регистрацию вышеперечисленных параметров.

Измерения первых четырех показателей осуществляются классическими методами[1].

Объемная скорость местного мозгового кровотока определяется путем измерения интенсивности инфракрасного излучения (ИК) после введения в организм вещества с известным действием на кровоток. [2].

Для этого над исследуемым участком мозга устанавливают датчик и приемник ИК излучения и после термостабилизации корпуса приемника с

черепной костью, измеряют интенсивность ИК излучения. В организм вводят вещество (ингаляция 5-7%CO_2 в смеси с воздухом) и регистрируют изменение интенсивности инфракрасного излучения. Интенсивность ИК излучения измеряют до и после введения в организм препарата и по изменению интенсивности излучения рассчитывают объемную скорость мозгового кровотока по формуле V=K•(100%:Vn)•ΔP, где Vn – изменение объемной скорости кровотока в % после введения препарата; ΔP – изменение интенсивности ИК излучения; К – коэффициент пропорциональности.

Измерение динамики поведения пиальных сосудов головного мозга основано на том факте, что сосуды с кровью поглощают более чем в 100 раз больше энергии ИК-излучения, чем окружающие сосуды мозговой ткани [3].

В авторском свидетельстве №1367694 представлен способ исследования мозгового кровообращения, которое осуществлялось посредством применения комбинированного датчика, состоящего из излучателя ИК-излучения (ИК светодиода (λ=930 нм)) и приемника ИК-излучения [4].

Определение насыщенности крови кислородом основано на фотоэлектрической колориметрии гемоглобина [5]. Метод измерения основан на различии спектральных параметров поглощения света гемоглобином и оксигемоглобином. На рис.1 представлены кривые поглощения света для восстановленного гемоглобина (1) и оксигемоглобина (2). Так как в спектре есть области, где поглощение гемоглобином значительно отличается от поглощения оксигемоглобином (620-680нм), то эта часть спектра является самой чувствительной к изменениям насыщенности крови кислородом и может быть использована для соответствуюших измерений. В спектре также имеются области, где поглощение света двумя видами гемоглобина одинаково (808нм). Такие области спектра также используются во время измерений для нейтрализации воздействия концентрации гемоглобина или количества крови в засвечиваемых тканях, что способствует обеспечению требуемой точности измерения.

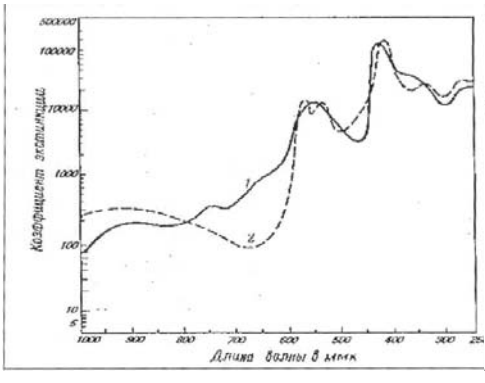


Рис. 1 Кривые поглощения света для восстановленного гемоглобина (1) и оксигемоглобина (2)

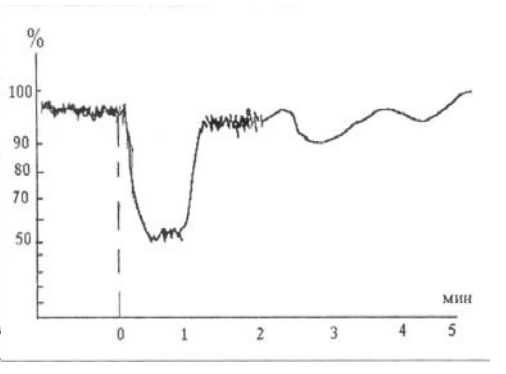


Рис. 2 Кривая отраженного от локального участка мозга ИК сигнала, зарегистрированного через неповрежденный череп

Отличительной особенностью разработанного способа является то обстоятельство, что посредством облучения участка мозга монохроматическим ИК-излучением с длиной волны 800-1200 нм неинвазивно регистрируют в динамике интенсивность отражения от сосудов с кровью и мозговой ткани с применением стандартных тестовых нагрузок, применяемых в клинике и эксперименте. Разница измеряемых величин позволяет судить о реактивности мозговых сосудов.

Динамика изменения сократительной функции сердца эмбрионов птиц и рептилий в процессе онтогенеза осуществляется посредством регистрации модулированного отраженного от сокращающегося обьекта (сердце) излучения ближнего ИК-диапазона, подводимого извне излучательными светодиодами [6]. Методом, представленным в А.С.№1597173, также можно регистрировать индуктивность, емкость, проводимость, миогенную и электрическую активность сердца развивающегося эмбриона, что позволяет с учетом данных почасовой хронологии онтогенеза эмбриона косвенно оценивать биологический ответ формирующегося эмбриона на широкий спектр воздействий.

Учитывая то обстоятельство, что нашей задачей является создание многофункциональной системы для медико-биологических исследований, который должен работать неинвазивным методом, благодаря чему одно и то же животное может подвергаться многократному исследованию на длительное время, а также учитывая индивидуальный физиологический статус животного, данная система, в отличии от используемых систем, будет иметь ряд преимуществ.

Модульная организация системы позволит настроить систему для решения различных задач при каждом эксперименте, а сопряжение с компьютером позволит осуществить динамический мониторинг биологических показателей.

Литература

1. Л. Кромвелл, М. Ардитти, Ф. Вейбелл и др.,"Медицинская электронная аппаратура для здравоохранения, Москва 1981
2. Габриелян Э.С., Манукян С.Г., Налбандян С.Г. и др. (А.С.№1334412) "Способ определения объемной скорости местного мозгового кровотока", 1987.
3. Габриелян Э.С., Налбандян С.Г. и др. (А.С.№1367694) "Способ исследования мозгового кровообращения", 1987.
4. Габриелян Э.С., Некоторые аспекты физиологии и фармакологии мозгового кровообращения. Ереван, 1976, 272с.
5. Мхитарян Р.Г., Исраелян Г.И., Налбандян С.Г. "Оптоволоконный датчик для регистрации оксигемометрических характеристик поверхностных структур головного мозга". Рац. предложение №167, 1990.
6. Болотинский Е.А., Автоматика в медицине и физиологии. Л.,1971, 166 с.
7. Налбандян С.Г., Казарян А.В. Способ Налбандяна – Казаряна (А.С.№1597173) "Исследование сократительной функции сердца эмбрионов птиц и рептилий ранних сроков развития и устройство по его осуществлению.

ՄԻ ՇԱՐՔ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՊԱՐԱՄԵՏՐԵՐԻ ԴԻՆԱՄԻԿ ՄՈՆԻՏՈՐԻՆԳԻ ԲԱԶՄԱԳՈՐԾՈՒՅԹԱՅԻՆ ԲԺՇԿԱԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳ

Ս. Գ. Նալբանդյան, Գ.Ռ. Խաչատրյան

Հոդվածում ներկայացված է բժշկակենսաբանական փորձերում օգտագործվող բազմագործույթային բժշկակենսաբանական համակարգ, որը կարող է ոչ ինվազիվ մեթոդով կենդանուց գրանցել նրա կենսագործունեության այնպիսի ցուցանիշներ, ինչպիսիք են շնչառության ամպլիտուդան և հաճախությունը, ռեկտալ ջերմաստիճանը, էլեկտրասրտագիրը, երակային և զարկերակային ճնշումը, գլխուղեղի պիալ անոթների վարքը, հեմոգլոբինի և օքսիհեմոգլոբինի պարունակությունը արյան մեջ, արյան հոսքի ծավալային արագությունը:

MULTIFUNCTIONAL MEDICO – BIOLOGICAL SYSTEM FOR DYNAMIC MONITORING OF SOME BIOLOGICAL PARAMETERS

S. G. Nalbandyan G. R. Khachatryan

Medical University named after M.Heraci

The article is about multifunctional medico-biological system,which may be used in medico-biological experiments and gives an opportunity to study all the medico-biological spheres, and it creates basis for diagnosing and treating different diseases of humanity.

This medico - biological system may register from the animal some parameters of its bioactivity, such as breathing, rectum temperature, the pulse frequency, electrocardiogram, the volume flow of the cerebral blood, blood pressure, the vasodilatation and the vasoconstriction of the brain pial vessels, the contents of hemoglobin and oxy-hemoglobin in blood, the contractile activity of the heart of the birds and reptiles at their early stage of development, the mechanical activity of the muscle function. in isotonic, isometric , auxotonic conditions.

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТРАНСГЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ)

Н.А.Аванян

Гаварский Государственный Университет, Армения; Медицинский Институт им.Меграбяна, Армения

Ключевые слова – генная инженерия, трансгенные технологии, генетически модифицированные (GM) организмы, GM- прдукты питания, экологический риск.

Key words - genetic engineering, transgenic technology, genetically modified (GM) organisms, GM food, ecological risk.

Прогрессивное развитие генной инженерии создало широкие возможности извлечения генов из одного организма и внедрения их в геном совершенно другого. При этом пересаженные гены, контролирующие развитие определенных признаков, обуславливают наличие таковых у организма-реципиента, изменяя его собственную генетическую программу (8,30,34). Созданные таким путем организмы называются генетически модифицированными (GM) , а технология их получения – трансгенной. Трансгенные технологии широко внедрились в сельское хозяйство. На сегодняшний день созданы новые сорта растений и породы животных, в геном которых введен чужеродный ген для придания этим организмам определенных характеристик и свойств: высокая продуктивность и урожайность, улучшение вкусовых качеств, толерантность к заболеваниям, резистентность по отношению к вредителям, холоду или засухе (4,9,33).

Трансгенные технологии дают возможность в широких пределах сочетать в одном организме полезные гены, преодолевая не только межвидовые, но и природные репродуктивные барьеры, соединяя гены глубоководных рыб и томатов (для придания последним морозостойкости), скорпиона и картофеля (для борьбы с колорадским жуком), кукурузы и бактерии (кукуруза самостоятельно начинает вырабатывать инсектицидный токсин), свиньи и шпината (для получения ненасыщенных жирных кислот взамен насыщенных в сале) – природа не допускает такого смешения генов. Таким образом, трансгенные технологии – это могущественный инструмент, позволяющий отодвинуть межвидовые границы и расширить возможности традиционных скрещиваний и селекционных методов.

На сегодняшний день, фактически, все зерновые и бобовые культуры, а также многие овощи и фрукты получены путем вмешательства генной инженерии, а пищевая промышленность вводит все эти продукты в продажу. На прилавках магазинов в большом ассортименте имеются продукты, или выработанные из GM-организмов, или содержащие GM –компоненты (6,17,19,29).

Одной из приоритетных и актуальных проблем современности является проблема питания, а именно - что мы едим и, что главное -насколько безопасными являются нынешние продукты питания (16,20,23). Влияние GM-продукции на организм человека в настоящее время тревожит умы разных ученых и специалистов. Многие из них склонны считать, что мутации организмов, полученные с помощью трансгенных технологий, потенциально

опасны для здоровья человека. Достоверно установлено, что при их употреблении значительно возрастают аллергические реакции в виде экземы, головных болей, хронической усталости, невралгии, раздражения желудочно-кишечного тракта (3,10,14,18,22,26). Проведенные на Западе исследования подтверждают подозрения, что GM-продукты вызывают иммунные растройства и, возможно, индуцируют генетические мутации в клетках, провоцируя возникновение злокачественных опухолей (16). Исследования, проведенные на лабораторных крысах, вскармливаемых GM-продуктами в течении 10 дней, установили у них уменьшение объема мозга, подавление иммунитета, разрушение селезенки, щитовидной железы, печени, желудочно-кишечного тракта (9). Результаты проведенных экспериментов подтверждаются исследованиями генетиков и медиков разных стран мира. Помимо этого, во всех GM-культурах присутствуют гены устойчивости к антибиотикам. Последние являются маркерами, с помощью которых уточняется перенос нужного гена в семена (5). Вполне вероятно, что использование таких растений в пищу может вызвать резистентность организма человека и животных к лечению антибиотиками (24). Большая часть генов переносится вирусами, которые встраивают нужный ген в ДНК GM-организмов. Поскольку эти вирусы активны, небезосновательны опасения, что встроенные гены могут перейти от GM-растений к любому другому нормальному организму. Проконтролировать поведение встроенного гена или остановить его в случае опасности невозможно. Имеются подозрения, что этот ген способен легко выбиваться из новой ДНК организма-реципиента и внедряться в любой другой организм, изменив его геном (8). Трансгенные растения опасны и для насекомых. Имеются многочисленные данные о гибели бабочек вида Монарх, употреблявших в пищу пыльцу GM-кукурузы (12,13,28). Проведенные в Шотландии правительственные исследования показали, что у божьих коровок, питавшихся тлей, которых вскармливали ростками GM-картофеля, уменьшалась плодовитость и вдвое сокращалась продолжительность жизни.

Не менее актуален и экологический риск, поскольку генная инженерия может привести к биологическому загрязнению окружающей среды, создавая новые гибриды с необычным геномом (1,21,28). Имеются опасения по поводу возможности передачи участков ДНК, характерных для трансгенных растений к традиционным местным диким сортам, что приведет к негативным последствиям для окружающей среды (2,30,31). Ученые полагают, что генетическое заражение происходит путем распространения пыльцы GM-растений, которая способна перекрестно опылять генетически не модифицированные дикие сорта, которые растут довольно далеко от промышленных плантаций. Особую обеспокоенность у экспертов вызывают регионы Центральной Америки, которая является зоной наибольшего разнообразия видов кукурузы (7,15,25). Генетики обследовали четыре сорта местной кукурузы и один образец трансгенной. Сравнивались геномы традиционных сортов с цепочками ДНК GM-кукрузы (содержащий ген, контролирующий выработку инсектицидного токсина), а также кукурузы, устойчивой к гербициду «Роундап». В результате исследования в геномах традиционных сортов были обнаружены участки ДНК, характерные для трансгенных сортов. Исследования, проведенные параллельно правительством Мексики, подтвердили полученные результаты. Ученые полагают, что существует своего рода генетический поток от трансгенных сортов к

традиционным. При этом в некоторых случаях сохраняется вся генетическая цепочка чуждого местным сортам генетического кода, участки которой могут сохраняться в традиционных сортах из поколения в поколение(15,25). Это не единственный пример передачи признаков от GM-растений к нормальным. Особую опасность представляют GM-редисы, поскольку приобретенные ими положительные качества могут перейти к многим сорнякам. Исследователи предупреждают о необходимости глубокого изучения взаимодействия GM- и традиционных видов растений, поскольку это чревато нарушением экологического баланса природных видов.

Имеются опасения и по поводу химического загрязнения окружающей среды. Так, использование сельскохозяйственных растений, толерантных к гербицидам и болезням, может привести к переходу этих качеств к родственным сорнякам и генетические особенности у последних сохраняются, по крайней мере, в течении шести поколений (2,11,32). Последнее обстоятельство привело к появлению практически непобедимых и неистребимых видов сорняков, что, в свою очередь, катострофически повысило количество применяемых ядохимикатов, таких как «Раундап». В результате появились токсические реакции у фермеров, в разы увеличилась угроза загрязнения почвы, почвенных и проточных вод, нарушения репродуктивной функции млекопитающих, жизни полезных насекомых, дождевых червей, рыб, птиц, и, вообще, всей фауны (30,31).

За рубежом GM-растения постепенно сдают свои позиции, поскольку очевидно, что предусмотреть все последствия трансгенных технологий, а тем более гарантировать их абсолютную безвредность невозможно. GM–продукция еще не прошла испытания временем и ее нужно подвергать более жесткому контролю. Влияние GM -продукции на организм человека не прошло испытания временем. Результаты потребления этих продуктов людьми проявятся только через несколько поколений. Поэтому их необходимо маркировать. Сегодня единственная возможность для населения получить правдивую информацию о GM-прдуктах питания – это требование от государственных организаций контроля за маркировкой GM-продукции, что даст каждому потребителю право выбора. Необходимо учитывать и реакцию окружающей среды на появление новых культур растений и пород животных.

Многие страны уже ввели бессрочный мораторий на использование трансгенных технологий и GM-продуктов питания до тех пор, пока влияние этих технологий на окружающую среду и на здоровье человека не будут исследованы самым тщательным образом. Нельзя до конца опытов «выпускать» GM-культуры на свободу (10,20,29). Не стоит забывать о печальных последствиях эпидемии коровьего бешенства, что свидетельствует о необходимости осторожного отношения к экспериментам с природой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ammann, K. et al.//Methods for risk assessment of transgenic plants: Ecological risks and prospects of transgenic plants. Where do we go from here?//.-Vol3.-Birkhauser.-Boston.-2000.

2. Adam, D.//Transgeniccrop trial`s gene flow turns weeds into wimps.//.-Nature.-421:462.

3. Buchanan, B//Genetic engineering and the allergy issue.//.-Plant Physiologe.-126:5-7.-2001

4. Byrne, P.//Rootworm-protected hybrid corn.-From the Ground Up, Colorado State University Cooperative Extension.-2001

5. Chambers, P. et al.//The fate antibiotic resistance marker genes in transgenic plant feed material fed to chickens.//.-Jour.of antimicrobial Chemotherapy.-49:161-164.-2002.

6. Charles, D.//Lords of the harvest:Biotech, big money and the future of food.//.-Perseus Books.- 2001.

7. Dalton, R.//Transgenic corn found growing in Mexico.//.-Nature.-413:337.-2001.

8. Doerfler,W.//Foreign DNA in mammalian systems.//.-Wiley-VCH:Weinheim.-Germany.-2000.

9. Even, S et al.//Effects of diets containing genetically modified potatoes containing Galanthus nivalis lectin on rat small intestines.//Lancet.-354:9187.-1999

10. Gaskell, G. et al.//Worlds apart? The reception of genetically modified foods in Europe and the U.S.//.-Science.-285:384-387.-1999.

11. Hall, L. et al.//Pollen flow between herbicide-resistant <<Brassica napus>> is the cause of multiple-resistant <<B. napus>> volunteers.//.-Weed Science.-48:688-694.-2000.

12. Hansen-Jesse, L. et al.//Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly.//.-Oecologia.-125:241-248.-2000.

13. Hellmich, R. et al.//Monarch larvae sensitivity to Bacillus thuringiensis-purified proteins and pollen.//.-Proceedings of the National Academy of Sciences.-98:11925-11930.-2001.

14 Hopkin, K.//The trisks on the table.//.-Scientific American.-P.60-61.-April.-2001.

15. Kaplinsky N. et al.//Maize transgene results in Mexico are artefacts.//.-Nature.-416:601-602.-2002.

16. Lambercht B.//Dinner at the new gene cafe: How genetic engineering is changing what we eat, how we live, and the global politics of food.//St. Martin`s Press.-2001.

17. Lappe, M. et al.//Againts the grain: Biotechnology and the corporate takeover of your food.//Common Courage Press.-1999.

18. Letourneau, D. et al.//Genetically engineered organisms: Assessing environmental and human health effects.//.-CRC Press.-Boca Raton.-Florida.-2001.

19. Marshall, E.//High-tech harvest: A look at genetically engineered foods (Impact Books: Science).//.-Franklin Watts Inc.Reading level: Young Adult.-1999.

20. McHughen, A.//Pandora`s picnic basket: The potential and hazards of genetically modified foods.//.-Oxford.-UK.-2000.

21. Nap, J –P.et al.//The release of genetically modified crops into the environment. Part I. Overview of current status and regulations.//.-The Plant Jour.-33:1-18.

22. Nordlee, J. et al.//Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans.//.-New Engl.Jour.of Medicine.-334:688-692.

23. Nottingham, S.//Eat your genes: How genetically modified food is entering your diet.//.-Zed Books Ltd.-London.-1998.

24. Osterblad, M. et al.//Antibiotic resistance. How wild are wild mammals?//.-Nature.-409:37-38.-2001.

25. Quist, D. et al.//Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico.//.-Nature.-414:541-543.-2001.

26. Rabjohn, P. et al.//Molecular cloning and epitope analysis of the peanut allergen Ara h 3.//.-Jour. Of Clinical Investigation.-103:535-542.-1999.

27. Rissler, J. et al.//The ecological risks of engineered crops.//.-Massachusetts Institute of Technology.-Cambridge.-MA.-1996.

28. Sears, M.. et al.//Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment.//.-Proceedings of the National Academy of Sciences.-98:11937-11942.-2001.

29. Thompson, L.//Are bio-engineered foods safe?//.-FDA Consumer.-2000

30. Watkinson, A. et al.//Predictions of biodiversity response to genetically modified herbicide-tolerant crops.//Science.-289:1554-1557.-2000.

31. Wolfenbarger,L. et al.//The ecological risks and benefits of genetically engineered plants.//.-Science.-290:2088-2093.-2000.

32. Zhang.H-X. et al.//Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit.//.-Nature Biotech.-19(8):765-768.-2001.

33. Zuo, J. et al.//Chemical-regulated, site-specific DNA excision in transgenic plants.//.-Nature Biotech.-19:157-161.-2001.

Գենային ինժեներիան և տրանսգենային տեխնոլոգիաների ժամանակակից պրոբլեմները

Ավանյան Ն.Ա.

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Գենային ինժեներության ժամանակակից մեթոդների վրա հիմնված, տրանսգենային տեխնոլոգիաների օգնությամբ հնարավորություն է ստեղցվել ստանալ գենետիկական փոփոխված օրգանիզմներ (GM), որոնց գենոմի մեջ պատվաստվել են այլ օրգանիզմների գեներ: Օրինակ՝ ստացվել են լոլիկի ցրտադիմացկուն սորտեր, որոնց գենոմի մեջ պատվաստել են խորջրյա ձկների գեներ կամ կոլորադյան բզեզի նկատմամբ դիմացկուն կարտոֆիլի սորտեր, որոնք ստացվել են կարիճի գեների պատվաստման հետևանքով:

Մտահոգիչ են բազմաթիվ տվյալները, որոնք վկայում են GM-սննդամթերքների բացասական ազդեցության մասին: Դրանցից առաջացած թունավորումները ուղեկցվում են ալերգիական ռեակցիաներով: Բացի այդ, այն կարող է նաև նպաստել չարորակ ուռուցքների, շաքարախտի և այլ հիվանդությունների առաջացմանը և ունենալ մահացու ելք :

Բերված տվիալները խոսում են GM-մթերքների նշագրման պետական հսկողության անհրաժեշտության մասին, ինչպես նաև ներմուծվող GM-սննդամթերքների արգելմանը առանց այդ մթերքների համապատասխան փորձարկումների:

GENETIC ENGINEERING AND MODERN PROBLEMS OF THE TRANSGENIC TECHNOLOGY

Avanyan N.A.

SUMMARY

A transgenic organisms contains a gene or genes which have been artificially inserted instead of the organism acquiring them through pollination. The inserted gene sequence (transgen) may come from another unrealated organism or produced its own insecticide species: Bt corn, for example, which produced its own insecticide, contains a gene from a bacterium. Organisms containing transgenes are often genetically modified or GM-organisms, although in reality crops have been genetically modified from their original wild state.

Transgenic tecnology enables to bring together in one organism useful genes from a wide range of living sources, not just from within the crop species or from closely related organisms. This technology provides the means for identifying and isolating genes controlling specific characteristics in one kind of organism, and for moving copies of those genes into another quite different organism, wich will then also have those characteristics.This powerful tool enables scientists to do what they have always done. It expands the possibilities beyong the limitations imposed by traditional cross-pollinaon and selection techniques.

ОРГАНИЗАЦИЯ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ЭКОНОМИЧЕСКИМИ СУБЪЕКТАМИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА АРМЕНИИ

О. М. Мартиросян, М. О. Мартиросян, Л.Г. Меграбян

Медицинский институт им. Меграбяна, Армения

Ключевые слова: оптимизация взаимодействия, организация взаимоотношений.

Эффективное взаимодействие субъектов фармацевтического рынка имеет решающее значение для оптимального использования ограниченных ресурсов отрасли при удовлетворении потребностей населения в фармацевтической помощи.

За последнее десятилетие на фармацевтическом рынке Армении произошли существенные структурные изменения, которые коснулись, прежде всего, количественного и качественного состава взаимодействующих сторон; расширения механизмов, принципов и технологий взаимодействия между субъектами; смещения приоритетов в характере взаимодействий с контролирующего на экономический, правовой, информационный и социальные уровни. Кроме того, развитие взаимодействия между субъектами фармацевтического рынка характеризуется процессами глобализации и усиления международного сотрудничества.

В современных условиях экономической деятельности, базирующейся на сочетании систем государственного регулирования и саморегуляции, необходим поиск новых путей повышения эффективности взаимоотношений между участниками фармацевтического рынка. Важную роль при этом может сыграть изучение опыта взаимодействия между экономическими субъектами фармацевтического рынка ряда зарубежных стран. Это обусловлено тем, что многие аспекты взаимодействия являются транснациональными и могут прояснить взаимоотношения между субъектами внутри страны. Помимо этого, отечественные субъекты, взаимодействуя с иностранными производителями, обязаны учитывать особенности взаимодействия, характерные для других стран.

Одним из основных показателей, влияющих на построение взаимоотношений между экономическими субъектами фармацевтического рынка, является их количественная характеристика. Она определяет характер достижения субъектами фармрынка соглашения о пропорциях распределения полезного эффекта в ходе обмена правомочиями. Для повышения объективности данной оценки нами предлагается использовать для анализа не абсолютный количественный показатель, а относительный – соотношение взаимосвязанных организаций. Низкий уровень соотношения субъектов может быть использован как один из показателей сложности взаимодействия, которое решается через повышенное количество субъектов, участвующих в сделке. Проведенное сравнение соотношения количества фармацевтических дистрибьюторов и аптечных организаций в различных странах явно указывает на проблемы взаимодействия субъектов фармрынка Армении.

Специфика взаимодействия между экономическими субъектами фармацевтического рынка разных стран определяет разнообразие структурных конфигураций логистических цепей при оказании фармацевтической помощи конечным потребителям. Характеристика конфигурации проведена нами с учетом следующих параметров: уровень прямых поставок, количество различных типов субъектов фармрынка, взаимодействующих с оптовым звеном.

В результате анализа установлено, что за рубежом сотрудничество производителей непосредственно с розничным звеном по вопросам поставок товара, так же как и в Армении, не является приоритетным.

Оптовому звену , находящемуся между производителями и розничным звеном, приходится контактировать с несколькими типами субъектов, что обусловливает необходимость высокого уровня взаимодействия. На основании количества взаимодействующих субъектов можно выделить страны, в которых оптовому звену приходится взаимодействовать максимально:

- с 2 типами субъектов – производители и аптеки (Германия)
- с 3 типами субъектов – производители, аптеки, больницы (Франция, Италия)
- с 5 типами субъектов – производители, аптеки, больницы, супермаркеты, компании, осуществляющие почтовую рассылку (США)

Законом Республики Армения «О лекарственных средствах» не регулируется деятельность оптовых предприятий Армении. Несмотря на такой юридический казус, оптовые предприятия Армении реализовывают лекарственные средства как через другие предприятия оптовой торговли, так и через аптечные организации.

Они могут реализовывать лекарственные средства также и медицинским учереждениям и физическим лицам, имеющим лицензию на занятие частной медицинской практикой.

Приоритетная ориентация дистрибьютора на определенный тип розничного звена (аптечный или больничный) является одной из особенностей структуры конфигурации каналов фармрынка. В некоторых странах внимание дистрибьюторов акцентируется на взаимодействие с лечебно профилактическими учреждениями (ЛПУ) (Япония). Особенностью взаимодействия армянских дистрибьюторов, как и в некоторых изученных странах (Франция, Италия), является преимущественное сосредоточение на взвимоотношениях с аптеками. Для Армении данный факт обусловлен ограниченными финансовыми возможностями больничных учреждений. Усиление конкуренции среди дистрибьюторов на аптечном рынке обусловливает возрастание интереса к ЛПУ крупных дистрибьюторов («Альфа Фарм», «Натали Фарм»).

Важным критерием, отличающим взаимоотношения на фармрынке разных стран, является взаимодействие экономических субъектов с государством , как с системообразуюшщим фактором. Субъекты фармрынка идут на действия по взаимодействию с государством, которые несут для них дополнительные издержки, но позволяют улучшить оказание фармацевтической помощи населению.

В Армении такое взаимодействие не сушествует.

В ходе анализа нами выделены основные направления оптимизации взаимодействия, которые заслуживают внимания при организации

взаимоотношений между экономическими субъектами фармацевтического рынка. К ним относятся:

1. Активное взаимодействие субъектов (дистрибьюторов и производителей) с розничным звеном при оказании фармацевтической помощи населению. Иностранные фармацевтические компании предоставляют своим клиентам услуги, выходящие за рамки обычных товарно-денежных отношений. Они проводят совместные акции с аптеками по стимулированию покупок конечными потребителями. Помимо этого в аптеках за счет дистрибьютора устанавливаются аппараты, измеряющие давление, вес и позволяющие просмотреть предыдущие измерения.
2. Селективная политика взаимодействия с субъектами фармрынка.
3. Создание вертикально интегрированных структур как способ снижения издержек взаимодействия.
4. Вовлечение во взаимодействие других субъектов фармрынка.

Հայաստանի դեղագործական շուկայում տնտեսավարող սուբյեկտների մեջ փոխհարաբերությունների կազմակերպումը:

Հ. Մ. Մարտիրոսյան, Մ.Հ.Մարտիրոսյան, Լ.Գ. Մեհրաբյան

Միջազգային փորձի հիման վրա ուսումնասիրվել է Հայաստանի դեղագործական շուկայում գործող տնտեսավարող սուբյեկտների փոխհարաբերությունների կոնֆիգուրացիան:

Առաջարկված են ուղիներ այդ փոխհարաբերությունները առավել օպտիմալացնելու համար, քանի որ արդյունավետ փոխհարաբերությունների կազմակերպումը հնարավորություն կտա բնակչության դեղագործական սպասարկում կազմակերպելիս արդյունավետ օգտագործել առկա սահմանափակ ռեսուրսները:

The organization between the economic subjects of the Armenian pharmaceuticul market

H.M.Martirosyan, M.H.Martirosyan, L.G. Mehrabyan

Based on the internetional market was studied the configuration of the economic subjects of the Armenian pharmaceuticul market .Was offered ways for optimilation the Armenian pharmaceuticul market as in this way we will have an opportunity to orgonize productive pharmaceuticul service for the Amenian people using limited resurses.

УДК.615 576.8

Р.В.Пароникян, Г.М.Степанян, Б.Т.Гарибджанян, А.Е.Селимян

Институт тонкой органической химии
им. А.Л.Мнджояна НАН РА

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО СВОЙСТВА "ЧОРАТАНА".

Ключевые слова: "Чоратан", антибактериальное действие, активность.

Key words: "Choratan", antibacterial influence, activity.

Известно, что с древних времен народы Ближнего Востока и Азии используют квашенное молоко в качестве пищевого продукта, который на Кавказе называют "Мацони".

Современные исследования показали, что "Мацони" содержит лактобактерии, дрожжи и аминокислоты. Существуют многочисленные способы получения "Мацони" при помощи природной закваски.

Однако ученными (армянскими) была выделена чистая культура закваски, при использовании которой в полученном "Мацони" количество лактобактерий и аминокислот значительно увеличиваются [1]. "Мацони" полученные таким способом называют "Биомацони". Одна из разновидностей "Биомацони" является "Чоратан", который назначается для очистки организма.

В настоящей работе проведено изучение антибактериальных свойств двух образцов "Чоратана" (сухой и жидкий), представленной "ООО" "Агаша" (Гост, АСТ 120-96).

Чоратан получают общеизвестным народным методом. Предназначается как пищевой продукт для улучшения и урегулирования пищеварения.

Антибактериальную активность "Чоратана" изучали чашечным методом и методом серийных разведении на мясопептонном бульоне (pH 7,2-7,4) при микробной нагрузке $2x10^6$ микробных тел в 1 мл среды [2,3].

В опытах использовали грамположительные микроорганизмы (Staphylococcus aureus 209p, 91, 34, 118) и грамотрицательные палочки (S.typhi 31120-90, Prot. vulgaris, Sh. dysenteriae flexneri 6858, E.typhi 79).

В чашки Петри диаметром 9 см разливали расплавленный агар в два слоя. Для нижнего слоя использовали 10 мл

незасеянного агара, для верхнего слоя – агаровую среду соответствующей тест-культурой в количестве 5 мл разливали на застывшую поверхность первого слоя. Температура, расплавленной для засева среды не должна превышать 48-50°С. После застывания засеянного агара на поверхность его наносили исследуемые вещества. Сухой образец в количестве 4 мг, а жидкий – вносили в цилиндрики из нержав стали в количестве по 0,2 мл.

Чашки помещались в термостат при температуре 37°С на 20-24 часа, после чего линейкой измеряли диаметр зоны задержки роста тест-микроба в мм.

При методе серийных разведений на каждый подопытный микроорганизм составлялись ряды по 6-8 пробирок, содержащие питательную среду с различными концентрациями испытуемых веществ.

Первой в ряд ставилась пробирка с четырьмя мл раствора – начальная концентрация, а последующие пробирки содержали по 2 мл мясопептонного бульона. Затем в стерильных условиях стерильно проводились серийные разведения. Два мл из последней пробирки переносили в пустую стерильную пробирку, которая служила контролем стерильности разведения в-ва в нее культура не закапывалась. Опыт учитывался только при отсутствии роста в этой пробирке.

Контролем в каждом ряду являлась пробирка со средой той же серии без вещества (контроль роста культуры). Пробирки засевались одинаковым количеством бактериальной взвеси приготовленной из 18-часовой культуры. Результаты опыта учитывались после 20-24-х часовой инкубации в термостате при 37°С.

Изучение антибактериального действия "Чоратана" чашечным методом показало, что оба образца обладают умеренной антимикробной активностью в отношении всех использованных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. При этом, они не отличаются между собой. Диаметр зоны задержки роста их составляет 15-20мм (табл.1). Кроме того, при анализе полученных результатов выяснилось, что оба образца не обладают избирательностью действия.

Величина зоны угнетения роста, мм табл.1

Вещества	Стафилококки				Грамотрицательные палочки			
	209р	91	34	118	S.typhi 31120-90	Proteus vulgaris	Sh.disent Flexneri 6858	E.typhi 79
Жидкий образец	16	17	15	15	20	15	16	17
Сухой образец	17	18	15	15	20	15	16	17

При исследовании антимикробного влияния "Чоратана" серийным методом не возможно было оценивать результаты визуально из-за мутности растворов обеих образцов. Для правильной оценки результатов из каждой пробирки делали высев на агаровую среду. После 20-24 часовой инкубации при 37°С оценку активности определяли по степени роста тест-культуры.

Установлено, что оба образца "Чоратана" обладают антибактериальной активностью в отношении всех использованных тест-культур. При этом они мало отличаются между собой. Жидкое вещество подавляет рост культуры в разведении 1:8, а сухое — в разведении 1:4 (табл. 2). Таким образом выявлено, что "Чоратан" обладает умеренной антибактериальной активностью в эксперименте.

Результаты испытания "Чоратана" в разведениях табл.2

Вещества		Стафилококки				Грамотрицательные палочки			
		209р	91	34	118	S.typhi 31120-90	Proteus vulgaris	Sh.disent Flexneri 6858	E.typhi 79
Жидкий образец	Чистое в-во	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:16	+	+	++ ++	+	+	+	++ ++	++
Сухой образец	Чистое в-во	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:8	++	-	++ ++	++ ++	-	++ ++	++ ++	++ ++
	1:16	++	++	++ ++	++ ++	+	++ ++	++ ++	++ ++

- отсутствие роста; +, ++ слабый рост; ++; ++ интенсивный рост.

Литература

1. Ерзинкян Л.А. "Биологические особенности некоторых рас молочнокислотных бактерий". Ереван. 1971.
2. Герольд М. "Антибиотики". М. "Медицина". 1966. стр. 93-101.
3. Егоров Н.С. "Основы учения от антибиотиках". М. "Высшая школа". 1979. стр. 168-176.

"ՉՈՐԱԹԱՆԻ" ՀԱԿԱԲԱԿՏԵՐԻԱԼ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ռ.Վ.Պարոնիկյան, Հ.Մ.Ստեփանյան, Բ.Տ.Ղարիբջանյան, Ա.Ե.Սելիմյան

Ուսումնասիրվել է "Չորաթանի" երկու նմուշների (չոր և հեղուկ) հակամիկրոբային ազդեցությունը: Ցույց է տրված, որ նրանք օժտված են չափավոր հակաբակտերիալ ակտիվությամբ:

R.V.Paronicyan, H.M.Stepanyan, B.T. Garibjanyn, A.E.Selimyan

INVESTIGATION THE ANTIBACTERIAL INFLUENCE OF "CHORATAN"

It was studied the antibacterial influence of two tests of "Choratan" (solid and liquid). It was shown that they have moderate antibacterial activity.

МОКСИФЛОКСАЦИН - РЕВОЛЮЦИЯ В ЭВОЛЮЦИОННОМ РАЗВИТИИ ФТОРХИНОЛОНОВ

Матевосян С.Р., Базеян А. А.

З.А.О. "ЛИКВОР"

Ключевые слова - Фторхинолоны, моксифлоксацин, тяжелые микстинфекции, моксицин®.

Key words - Fluoroquinolones, moxifloxacin, serious mixtinfections, moxicin®.

Несмотря на большие успехи в области антимикробной химиотерапии, достигнутые в последние годы, частота тяжелых инфекций остается высокой, и во многих случаях они являются причиной смерти больных. Особую сложность лечения представляют инфекции в отделениях интенсивной терапии и у больных с нейтропенией. Трудности лечения связаны с особенностями возбудителей инфекций, нередко обладающих резистентностью ко многим антибактериальным препаратам. К таким "проблемным" микроорганизмам относятся прежде всего Staphylococcus aureus и коагулазонегативные стафилококки (в основном Staphylococcus epidermidis), в том числе штаммы, резистентные к метициллину, полирезистентные энтерококки (Enterococcus faecalis и E. faecium), а также пенициллин-резистентные пневмококки (Streptococcus pneumoniae). Среди грамотрицательных микроорганизмов следует выделить псевдомонады (Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas spp.), группу энтеробактер (Enterobacter cloacae), Klebsiella pneumoniae, Serratia spp., продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра и резистентных к цефалоспоринам III поколения, Stenotrophomonas maltophilia, вызывающая гидролиз большинства бета -лактамных антибиотиков, в том числе карбапенемов. Эти микроорганизмы являются частыми возбудителями инфекций различной локализации (пневмония, перитонит, раневая инфекция). Поиск новых антибактериальных средств с расширенным спектром действия для лечения больных с тяжелыми инфекциями является актуальной задачей современной химиотерапии. Одним из наиболее интенсивно разрабатываемых классов антибактериальных препаратов на сегодняшний день являются фторхинолоны, представленные четырьмя поколениями. Базовым представителем фторхинолонов четвертого поколения является моксифлоксацин- антибактериальный препарат, принципиально отличающийся от существующих. За несколько лет применения в практической медицине этот антибиотик вошел в стандарты лечения инфекционных заболеваний в большинстве европейских стран. *Моксифлоксацин* - новый 8-метоксихинолон широкого спектра действия с высокой активностью в отношении грам (+) и грам (-) аэробной микрофлоры, анаэробов и внутриклеточных возбудителей. Он обладает также активностью против микроорганизмов, резистентных к другим классам антибактериальных препаратов.

Резистентность к моксифлоксацину развивается медленно и связана с многоступенчатыми мутациями.

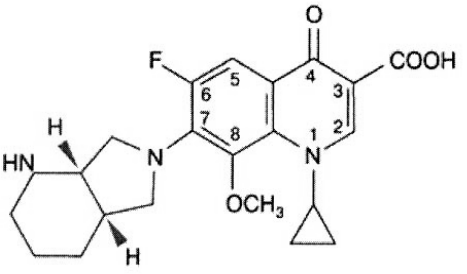


Рис. 1. Химическая структура моксифлоксацина

1-Циклопропил-7[(S,S)-2,8-диаза-бицикло(4.3.0)-8-ил]-фтор-
1,4-дигидро-4-оксо-3-хинолонкарбоновой кислоты гидрохлорид

Механизм действия

Механизм действия моксифлоксацина связан с ингибированием ДНК-гиразы - основного фермента бактериальной клетки, ответственного за процесс нормального биосинтеза ДНК. Препарат характеризуется высокой бактерицидной активностью, при этом бактерицидный эффект проявляется на уровне минимальных подавляющих концентраций (МПК).

Спектр активности

Моксифлоксацин обладает широким, хорошо сбалансированным антимикробным спектром, который сочетает активность фторхинолонов II поколения в отношении грамотрицательных бактерий с высокой активностью в отношении грамположительных бактерий, анаэробов и атипичных возбудителей.

Активность моксифлоксацина в отношении грамположительных бактерий (метициллин-резистентных, коагулазонегативных стафилококков, полирезистентныех пневмококков, энтерококков) превышает таковую наиболее активных цефалоспоринов III- IV поколений и может быть сравнима с активностью ванкомицина. Препарат обладает выраженной активностью в отношении атипичных внутриклеточных возбудителей (микоплазм, хламидий, уреоплазмам, легионнел, микобактерий) превосходящей активность макролидов, доксициклина, фторхинолонов II-III поколения.

Антимикробный спектр моксифлоксацина в отличие от фторхинолонов II– III поколений охватывает также анаэробных микроорганизмов. По антианаэробной активности моксифлоксацин сравним с имипенемом, метронидазолом и клиндамицином.

Фармакокинетика

Высокий потенциал моксифлоксацина для лечения инфекций, на ряду с широким спектром действия определяется также благоприятными фармакокинетическими свойствами.

Моксифлоксацин характеризуется низкой степенью связывания с протеинами (40-42 %) и, следовательно, имеет большой объемом распределения. Хорошо проникает в органы, ткани, клетки и жидкости организма, обеспечивая высокие и

стабильные концентрации в дыхательных путях, альвеолярных макрофагах, плевральной жидкости, перитонеальном экссудате, желчном пузыре, тканях аппендикса, поджелудочной железы, печени и почек, многократно превышающие максимальные подавляющие концентрации для большинства микроорганизмов.

Препарат имеет длительный период полувыведения (12-14 ч), что позволяет дозировать его 1 раз в сутки. При применении моксифлоксацина не требуется коррекция режима дозирования у больных пожилого возраста и пациентов с нарушенной функцией почек и печени. Препарат отличают высокий профиль безопасности и переносимости, отсутствие нефротоксического, гепатотоксического действия, кардиотоксических эффектов (удлинение интервала QT).

Кроме того, моксифлоксацин обладает продолжительным, более 2 часов, постантибиотическим эффектом, низкой вероятностью развития резистентности - весьма важными *фармакодинамическим свойствами* антибиотика.

Моксифлоксацин метаболизируется в печени, путем конъюгации, с образованием двух основных метаболитов -сульфопроизводного моксифлоксацина и ацилглюкуронида, которые не обладают антимикробной активностью. Выводится из организма с мочой в виде неизмененного препарата и в виде метаболитов, а также через желудочно кишечный тракт.

Применение

Применяется моксифлоксацин при инфекционно-воспалительных заболеваниях вызванных чувствительными микроорганизмами. Заболевания дыхательных путей, эндокардит, остеомиелит, инфекции у больных в отделении интенсивной терапии, инфекции у лихорадящих больных с нейтропенией, инфекции у онкологических больных, инфекциях кожи и мягких тканей, осложненные интраабдоминальные, гинекологические инфекции, осложненные инфекции мочевых путей.

Однократное введение обеспечивает эффективную профилактику при длительных операциях на органах брюшной полости, при урологических операциях, в торакальной хирургии, в кардиохирургии.

Моксифлоксацин назначается по 400 мг 1 раз в сутки. Рекомендуемая длительность применения зависит от показаний, в среднем 7 – 10 дней.

Противопоказания

Гиперчувствительность к другим хинолонам, беременность и лактация, возраст до 18 лет (безопасность и эффективность применения не определены; следует иметь в виду, что моксифлоксацин вызывает артропатию у молодых растущих животных). Применение ограничено при синдроме удлинения интервала QT, не корректируемой гипокалиемии, эпилепсии.

Введении моксифлоксацина не оказывает клинически значимого влияния на фармакокинетику варфарина, теофиллина, морфия, итраконазола, глибенкламида. Моксифлоксацин незначительно изменяет фармакокинетические параметры дигоксина.

Не рекомендуется одновременно применять с кортикостероидами, антиаритмическими препаратами IA- и III-классов.

Нежелательные реакции

По данным метаанализа клинических исследований, включавших около 6000 пациентов, которые принимали моксифлоксацин, частота нежелательных реакций составила 20% и была сравнимой с препаратами выбора при лечении этих заболеваний.

Наиболее частыми нежелательными реакциями были тошнота, диарея (14%) и головокружение (3%); при первом введении возможна также преходящая тахикардия.

Не выявлено случаев артритов и тендинитов фототоксичности, кардиодепрессии.

Моксифлоксацин, существенно не влияет на микрофлору кишечника: после окончания приема препарата за короткий период ее состав нормализуется. Возможно развитие вагинального, орального кандидоза.

С 1998 г. моксифлоксацин широко применяется во всем мире. Создателем инфузионной формы препарата является компания BAYER.

С 2004 г. отечественная фармацевтическая компания ЛИКВОР начала производство моксифлоксацина под торговым названием МОКСИЦИН® в виде инфузионного раствора.

Препарат успешно применяется в Армении и экспортируется в отдельные страны СНГ уже более 2-ух лет. Моксицин характеризуется широким спектром антибактериальной активности, быстрым клиническим эффектом, хорошей переносимостью, единой дозировкой, не требующей индивидуального подбора дозы, однократным введением в сутки, улучшенным профилем безопасности и лекарственного взаимодействия.

По сумме фармакодинамических и фармакокинетических характеристик моксицин отвечает требованиям предъявляемым к средствам эмпирической монотерапии при тяжелых инфекциях.

Отметим, что при выборе антибактериального средства, наряду с микробиологической активностью, большое значение имеет его стоимость. С учетом данного фактора несомненное преимущество имеют современные высокоэффективные средства отечественного производства. Производство моксицина фармацевтической компанией ЛИКВОР открыло новые перспективы для применения препарата во врачебной практике в Армении. Эмпирической монотерапия значительно оптимизирует расходы на лечение пациентов в условиях стационара и улучшает комплаентность больного по отношению к проводимой терапии.

Литература

1. Appelbaum P., Hunter P. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. Int J Antimicrob Agents 2000; 16:5-15.
2. Schmitz F.-J., Fluit A., Scheuring S., et al. Analysis of mechanisms conferring quinolone resistance in Staphylococcus aureus. Clin Microb Infection 1999; 5 (Suppl 3):102
3. Johnson A., Livermore D., Warner M., James D., George R. Activity of moxifloxacin against invasive and multiresistant pneumococci from England and Wales. Proceedings of the 39th ICAAC[6]; 1999 Sep 26–29; San Francisco, USA. p.255

4. Maggiolo F., Capra R., Bottura P. et al. In vitro bactericidal effect of moxifloxacin, alone and in combination, against vancomycin-resistant enterococci. 38th Intrersci Conf Antimicrob Agents Chemother, San Diego, 1998; Abstr No. E-201.
5. Карпов О. И., Ниаури Д. А., Зайцев А. А. и др. Эффективность моксифлоксацина для профилактики инфекции при абдоминальной гистерэктомии. Национальный конгресс: Человек и лекарство. М.: 2003; 209—210.
6. Яковлев С. В., Мохов О. И., Суворова М. П. Моксифлоксацин: антимикробная активность, фармакокинетика и клиническое применение при внебольничных респираторных инфекциях. Клин. фармако терапия 2001; 2: 51—56.
7. Страчунский, В.А. Кречиков. Моксифлоксацин – фторхинолон нового поколения с широким спектром активности Л.С., Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, инфекции и антимикробная терапия, 2000; том 2, №4, СТР. 104

MOXIFLOXACIN - REVOLUTION IN THE EVOLUTIONARY DEVELOPMENT OF FLUOROQUINOLONES

S.R. Matevosyan; A.A. Bazeyan "Liqvor" Pharmaceuticals

Moxifloxacin is an 8-methoxy-fluoroquinolone antibiotic with a broad spectrum of activity and bactericidal action. It has activity against a wide range of Gram-positive and Gram-negative organisms, anaerobes, β-lactam and macrolide resistant bacteria and atypicals.

The antibacterial action of moxifloxacin results from inhibition of the DNA gyrase and topoisomerase IV, due to which the growth and division of bacterial cells is disturbed. It is used for the treatment of serious infections of the lung, osteomyelitis, pelvic inflammatory disease, septic arthritis, bacteremia, and endocarditis.

ՄՈՔՍԻՖԼՈԿՍԱՑԻՆ՝ ՀԵՂԱՇՐՋՈՒՄ ՖՏՈՐԽԻՆՈԼՈՆՆԵՐԻ ԷՎՈԼՅՈՒՑԻՈՆ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ՄԵՋ

Ս.Ռ. Մաթևոսյան, Ա.Ա. Բազեյան
«Լիկվոր» դեղագործական ձեռնարկություն

Մոքսիֆլոկսացինը լայն սպեկտրի նոր մետօքսիխինոլոն է ՝ օժտված բարձր ակտիվությամբ Գրամ-դրական, Գրամ-բացասական աէրոբ, անաէրոբ, β-լակտամ ռեզիստենտ և ատիպիկ միկրոօրգանիզմների նկատմամբ:

Ազդեցության մեխանիզմը պայմանավորված է բակտերիալ բջջի ԴՆԹ-գիրազա և տոպոիզոմերազա IV ֆերմենտների ընկճմամբ, որի հետևանքով կանխվում է բջջի աճն ու բազմացումը:

Կիրառվում է ծանր ինֆեկցիոն հիվանդությունների՝ շնչառական օրգանների ինֆեկցիաների, օստեոմիելիտի, ներորովայնային ինֆեկցիաների, սեպսիսի, էնդոկարդիտի ժամանակ:

ТРИБЕСТАН – ЭФФЕКТИВНЫЙ ФИТОПРЕПАРАТ

Петр Авакян

Компания "АРМФАРМ"

Ключевые слова: Трибестан, спортсмен, клинические исследования, биостимулятор, либидо, бесплодие, гормон молодости

Трибестан является оригинальным, негормональным препаратом производства болгарской фармацевтической компании Sopharma. Активную субстанцию, содержащую стероидные сапонины фуростанолового типа, среди которых преобладает протодиосцин, получают из надземных частей *Tribulus terrestris L* (якорцы стелющиеся). Еще с античных времен растение используется как афродизиак (от лат.Aphrodisiaca-вещества, стимулирующие половое влечение,вызывающие возбуждение. Получили название в честь богини любви Афродиты), а также для лечения урологических инфекций, отеков и асцитов . Трибестан вошел в клиническую практику 20 лет назад. Он применяется при импотенции и бесплодии у мужчин, а также для смягчения патологических, климактерических проявлений у женщин.

Бесплодие (инфертильность) является состоянием, когда попытки забеременеть в течение 12 месяцев неуспешны. В развитых странах около 15% брачных пар в репродуктивном возрасте не могут иметь детей. В 40% случаев причина бесплодия в мужчине. Но полученные данные отражают только видимую вершину айсберга, так как относятся к семейным людям, обращающимся за помощью к врачу.

Причин бесплодия много, и они обуславливаются как генетическими аномалиями, так и факторами окружающей среды, и образом жизни. Причина бесплодия не обнаруживается примерно в 35%. Это так называемое идиопатическое бесплодие — серьезный вызов современной медицине. Лечение этого состояния проводится эмпирически, так как причина и механизмы возникновения неизвестны.

Клинические исследования показывают, что трибестан значительно увеличивает количество и удельный вес подвижных сперматозоидов в случае идиопатического бесплодия, когда общее количество подвижных и нормальной формы сперматозоидов уменьшается по невыясненным на сегодня причинам (идиопатическая олиго-астено-тератозооспермия). Прием трибестана эффективно улучшает спермальные показатели, измененные после операции по поводу варикоцеле. В двойном слепом плацебоконтролируемом многоцентровом исследовании препарат применялся в течение 12 недель у мужчин с идиопатической олиго-астено-тератозооспермией. У 22% бездетных пар наступила беременность .

Проведенные исследования показывают, что при идиопатическом бесплодии и после операции по поводу варикоцеле можно забеременеть естественным путем или с помощью техник *in vitro,* после предварительного лечения трибестаном.

О благоприятном действии трибестана на фертильные показатели можно судить косвенно и по понижению уровня фолликулостимулирующего гормона

(ФСГ) в сыворотке, в ходе лечения препаратом (М. Протич. и сотр., неопубликованные данные). Как известно, существует обратная отрицательная связь между этим гормоном и герминативным эпителием. При улучшении сперматогенеза снижается продукция ФСГ гипофизом .

Необходимо отметить единственное пока исследование, когда применение трибестана привело к уменьшению локального образования иммуноглобулинов (V. Nicolova and R. Stanislavov, неопубликованные данные). Эти результаты указывают на возможность применения препарата при бесплодии, обусловленном наличием антител против сперматозоидов и семенной жидкости.

Либидо и эрекция важнейшие, но и наиболее ранимые звенья мужской сексуальности. С 1993 года эректильной дисфункцией называется отклонение, при котором невозможно достичь и/или поддерживать эрекцию, позволяющую совершить удовлетворительное половое сношение. Импотенция сохраняется как обобщающий термин ослабленной мужской сексуальности . Так, эректильная дисфункция лишь одно из проявлений импотенции. Самое масштабное в этом направлении — Массачусетское исследование стареющего мужчины (MMAS) — проведено в США в конце 80-х годов прошлого века среди мужчин в возрасте 40–70 лет. Больше половины (52%) исследуемых признали наличие в различной степени выраженных (легких, средних и тяжелых) нарушений эрекции.

У больных с тяжелыми заболеваниями групп первичного и вторичного гипоорхидизма (синдром Klinefelter и синдром Noonan) трибестан вызывает как восстановление и усиление либидо, так и улучшение и удлинение эрекции. У 45 мужчин с эректильной дисфункцией и пониженным либидо, 15 из которых больны сахарным диабетом, сексуальное желание увеличилось, а частота коитусов с качественными эрекциями после лечения трибестаном увеличилась на 62%. У 8 больных сахарным диабетом (т. е. 53%) отмечено благоприятное действие препарата. В некоторых случаях действие трибестана наступало после первых десяти дней лечения.

Необходимо отметить, что трибестан улучшает не только способность к эрекции, но и усиливает либидо.

Трибестан - единственный натуральный продукт, стимулирующий выработку половых гормонов естественным путем.

Опыт применения трибестана у женщин достаточный. Сообщается, что препарат облегчает большинство постменопаузальных симптомов — проходят нейровегетативные и нейропсихические проявления и симптомы со стороны сердечно-сосудистой системы (П. Табакова и сотр., неопубликованные данные).

Самая частая жалоба женщин в климактерии — приливы, появляющиеся у 754 женщин в менопаузе, причем 25–50% из них страдают этим вазомоторным симптомом более 5 лет. Всеобщее мнение, что лечение эстрогенами эффективно в более чем 90% случаев .Эстрогены часто образно называют “гормонами молодости”, ”гормонами красоты и положительных эмоций” и соответственно, снижение содержание эстрогенов в женском организме, развивающееся в результате возрастного “увядания”, приводит к ряду трофических и метаболических изменений характеризующих в значительной степени процесс старения организма женщины. У 50 женщин в климактерии, принимающих трибестан, приливы исчезли у 98% (П. Табакова и сотр.,

неопубликованные данные). Применение трибестана снижает риск развития рака гениталий и молочных желез, возникновение которых возможно при приеме эстрогенов.

Впервые Ф. Куманов и соавт. (1982 г.) сообщают, что уровень общего холестерина в сыворотке у людей под воздействием трибестана значительно понижается .

В открытом исследовании, в котором участвовали 50 мужчин в возрасте от 20 до 52 лет с применением трибестана, установлено значительное улучшение показателей липидного обмена. Эти исследования имеют большое значение. Они открывают новые возможности применения препарата при ожирении, а также для предотвращения атеросклероза как важной части мер для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Свойство препаратов tribulus terrestris повышать уровень тестостерона, естественно, привлекло внимание спортсменов в силовых видах спорта. Есть сведения, что болгарские спортсмены еще в 60-е годы использовали трибестан при наращивании мышечной массы. При огромных нагрузках, характерных для тяжелой атлетики, ускорение роста мышечной ткани играет немалую роль. Оценили трибулус и культуристы, поскольку он не является допинговым средством, в отличие от прогормонов.

Кроме того, некоторые авторы рекомендуют использовать трибулус для повышения хронически сниженного уровня тестостерона (скажем, после приема высоких доз анаболических стероидов). Результат заметен уже в течение первой недели приема.

Трибулус эффективен в сочетании с прогормонами, поскольку в данном случае имеет место синергизм (усиление эффекта обоих веществ).

Оптимален также совместный прием с другими анаболизирующими препаратами, в том числе природными. Сочетание с антиокислителями и витаминами обеспечивает многостороннее воздействие - помимо анаболизирующего эффекта, улучшается липидный профиль, снимается свободнорадикальный стресс.

Трибестан - растительный препарат, имеющий достаточно широкую область применения и хорошую эффективность при минимуме побочных эффектов. Вполне можно рекомендовать его как заменитель более мощных анаболизирующих средств, хотя стоимость его может быть довольно высокой. При необходимости достижения заметных результатов рекомендуется сочетание с другими анаболизирующими препаратами природного происхождения.

В заключении хотелось бы отметить – как негормональный фитохимический биостимулятор трибестан оказывает общеукрепляющее действие, стимулирует функцию половой системы. У мужчин восстанавливает и улучшает libido sexualis, продляет время эрекции. Обладает стимулирующим действием на сперматогенез, увеличивая количество сперматозоидов и их подвижность. У женщин трибестан улучшает libido sexualis, положительно влияет на вазомоторные проявления при возрастном и посткастрационном климаксе, уменьшает субъективные ощущения: бессонница, общее напряжение, раздражительность или апатию.

Накопленный опыт применения трибестана в лечении бесплодия женщин и мужчин дает основание рекомендовать его в случаях нарушения формирования

гамет, обусловленного стрессом, продолжительным бесплодием, нарушенным или отсутствующим либидо и т. д., вызывающими ановуляторный менструальный цикл, дискинетические изменения маточных туб, а у мужчин качественные изменения спермы.

“Софарма”- производитель трибестана, является одной из динамично развивающихся фармацевтических компаний в Европе.

Tribestan – effective phytopreparation

Tribestan as a non hormonal phytochemical biostimulator takes a tonic action and stimulates sexual system.

At men Tribestan restores and improves libido sexualis, prolong the time of erection. It possesses of stimulating action on spermatogenesis by the increasing quantity of spermatozoons and their mobility.

At women Tribestan improves libido sexualis, take a positive effect on vasomotor manifestations at age-specific and postcastraction climax, reduces subjective sensations: sleeplessness, the general pressure, irritability or apathy.

The saved up experience of using Tribestan in treatment of barrenness of women and men gives the basis to recommend it in cases of infringement of formation of the gametes caused by stress, long barrenness, infringement or absent libido, etc., causing anovulatory menstrual cycle, diskinetic changes uterus tubas, and at men qualitative changes of sperm.

"Sopharma" , which is the manufacturer of Tribestan, is one of dynamically developing pharmaceutical companies in Europe.

Литература

1. Koumanov, F., E. Bozadjiev., M. Andreeva, E. Platonova, V. Ankov, Clinical testing of the preparation Tribestan – Modern Med, XXXIII, 1982, 4, 211-215
2. Koumanov F., Infertility in man. Endochrynology, p/red. B. Louzanov, Tillia and “Prof. Marin Drinov, S., 2000, 667-670
3. Пауэрлифтинг в Смоленской области. Трибестан
4. Клинический опыт применения препарата “ Трибестан”- журнал “Провизор” выпуск №7 за 2002 г.

ՄԵՀՐԱԲՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏԻ ՏԵՂԵԿԱՏՈՒ

«**Մեհրաբյանի անվան բժշկական ինստիտուտի տեղեկատու**» – ն հանդիսանում է Մեհրաբյանի անվան բժշկական ինստիտուտի գիտական լրատվական ծառայողական միջոց, որում կարող են զետեղվել Հայաստանի Հանրապետության և այլ երկրների առողջապահական և բժշկակրթական բնագավառներին առնչվող տեսական և գործնական գիտակրթական և գիտամեթոդական մենագրություններ, հոդվածներ, աշխատություններ և առաջարկություններ:

"ВЕСТНИК МЕДИЦИНСКОГО ИНСТИТУТА ИМ. МЕГРАБЯНА" является научно–информационным органом медицинского института им. Меграбяна, в котором могут быть представлены теоретические, практические, научно–образовательные и научно–методические монографии, статьи, работы и предложения армянских и иностранных ученых в областях здравоохранения и медицинского образования.

Տեղեկատուի խմբագրական խորհուրդը խնդրում է հոդվածները
ուղարկել հետևյալ հասցեով.
Редакционный совет вестника просит направлять статьи по адре

375033,Երևան,
Հր. Քոչարի 21
(374 10) 26–27–43,
28–95–54,]
25–76–45
ՖԱՔՍ՝ 26–24–53

375033,Yerevan,
21 Kochari st.
(374 10) 26–27–43,
28–95–54,
25–76–45
FAX: 26–24–53

375033, Ереван,
ул. Гр. Кочара 21
(374 10) 26–27–43,
28–95–54
25–76–45
ФАКС: 26–24–53

www.armmed.am
E–mail : med_mehrabyan@rambler.ru

Компьютерная верстка и дизайн – *Казарян Амазасп Седракович*
Гаспарян Нарине Ашотовна

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Dimitar Stavrev, Iskra Kapincheva
PROF. PARASKEV STOYANOV, MD – FIRST YEARS OF TEACHING ACTIVITY 3

Stefka Valcheva-Kuzmanova, Diana Ivanova, Anna Belcheva
TOTAL PHENOLIC CONTENT AND IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FRUIT JUICES FROM ARONIA MELANOCARPA, PUNICA GRANATUM AND RUBUS CAESIUS 5

И. Пашалиева, Зл. Стоянов
РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ЭРИТРОПОЭТИН И ПРОБИОТИКИ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ СИНЕРГИСТЫ В БИОТЕРАПИИ РАКА? 10

С.О.Вартанян, А.С.Авакян, Э.А.Маркарян, А.Б.Саргсян, А.С.Цатинян, Э.А.Ширинян
СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ АДРЕНО- И СИМПАТОЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ N-ЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОАМИДОВ- ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗОДИОКСАНА 16

В.О. Топузян
СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ α,β-ДЕГИДРОАМИНОКИСЛОТ С ЦЕЛЬЮ ИЗЫСКАНИЯ ОПИОИДНЫХ АНТАГОНИСТОВ..... 20

Р. В Пароникян, Г.М. Степанян, К.П. Григорян, С. А. Казарян
АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ЭТИЛОВЫХ ЭФИРОВ САЛИЦИЛИДЕН - И НИКОТИНИЛ – АМИНОКИСЛОТ В ВИДЕ ХЕЛАТОВ ДВУХВАЛЕНТНЫХ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ 32

Ghazaryan S.H., Grigoryan K.P., Azatyan K.V. and Ayrapetyan S.N.
ON THE MECHANISM OF THE EFFECT OF STRUCTURAL ANALOGS OF ACETYLCHOLINE ON ANTIGRADIENT NA EFFLUX FROM THE CELLS 36

Л.А. Аракелян, С.А. Казарян, Н.Х. Алчуджян, Н.О. Мовсесян, И.С. Акопян, О. А. Мовсесян, К.П. Григорян
УТИЛИЗАЦИЯ L-АРГИНИНА И СИНТЕЗ ОКСИДА АЗОТА В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ; ВЛИЯНИЕ ЛИТИЕВОЙ И НАТРИЕВОЙ СОЛЕЙ N^A-ПАРА-БУТОКСИБЕНЗОИЛ-L-АРГИНИНА 45

А.А. Пепанян
МЕМБРАННЫЕ АСПЕКТЫ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ИОНИЗИРУЮЩЕМ ОБЛУЧЕНИИ 55

Оганесян Н.М., Абрамян А.К., Оганесян А.Н., Погосян А.С., Асрян К.В., Мириджанян М.И., Петросян Ш.М., Карапетян А.Г.
ПРИМЕНЕНИЕ БИОСТИМУЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ 63

Toshihiko Kato, Alexander Kairis, Jun Uno, Yasunori Momose
CHARACTERISTIC AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF NARINE. LACTOBACILIUS ACIDOPHILUS Er-2 STRAIN 317/402 71

З.Р. Тер-Погосян, С. К. Карамян, Н.Г.Джагацпанян, М.Г. Гаспарян, З.А.Каралян.
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СБОРА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ТРАВ IN VITRO У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ 77

В.А.Мнацаканян
ФЛАВОНОИДЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФЛОРЫ АРМЕНИИ 83

Гаспарян Г.В., Мнацаканян В.А., Мкртчян Г.С., Погосян А.Е.
ИЗУЧЕНИЕ ТОНИЗИРУЮЩИХ И СТИМУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА “ЛАКСОЗИД” ПРИ ГИПЕРКИНЕЗИИ 88

E.N. Garabedian, N. Loundon, N. Verhille, A. Pierre, S. Marlin 94

А.К. Шукурян, М.Х. Назарян
ОСОБЕННОСТИ ВЕСТИБУЛЯРНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С КОНДУКТИВНОЙ И СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТЬЮ 95

Григорян Г. Л., Шахсуварян М. Л
ЛОКАЛЬНЫЙ ФАКТОР РИСКА ОККЛЮЗИИ СОСУДИСТЫХ АРКАД СЕТЧАТКИ 98

*Оганесян Г.Г., Топчян А.В., Барсегя*н А.А., Ревазова Л.В.,
Григорян Н.Г., Багумян Р.М.
ПРОЯВЛЕНИЯ ПРЕБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИНУЛИНА ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ КОРНЯ ЛОПУХА БОЛЬШОГО (ARCTIUM LAPPA) IN VITRO 103

С. Г. Налбандян, Г. Р. Хачатрян
МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДИНАМИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА РЯДА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ 107

Н.А.Аванян
ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТРАНСГЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ) 111

О. М. Мартиросян, М. О. Мартиросян, Л.Г. Меграбян
ОРГАНИЗАЦИЯ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ЭКОНОМИЧЕСКИМИ СУБЪЕКТАМИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА АРМЕНИИ 117

Р.В. Пароникян, Г.М. Степанян,Б.Т. Гарибджанян, А.Е.Селимян
ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО СВОЙСТВА “ЧОРАТАНА” 120

Матевосян С.Р., Базеян А. А.
МОКСИФЛОКСАЦИН - РЕВОЛЮЦИЯ В ЭВОЛЮЦИОННОМ РАЗВИТИИ ФТОРХИНОЛОНОВ 124

Петр Авакян
ТРИБЕСТАН – ЭФФЕКТИВНЫЙ ФИТОПРЕПАРАТ 129

ՄԵՀՐԱԲՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ
ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏԻ ՏԵՂԵԿԱԳԻՐ
•
ВЕСТНИК
МЕДИЦИНСКОГО ИНСТИТУТА ИМ. МЕГРАБЯНА
•
BULLETIN
OF THE MEDICAL INSTITUTE AFTER MEHRABYAN

Տպագրությունը՝ օֆսեթ: Չափսը՝ 70x100 1/16: Թուղթը՝ օֆսեթ:
Ծավալը՝ 8.5 տպ. մամուլ:

«ԶԱՆԳԱԿ–97» ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
0375051, Երևան, Կոմիտասի պող. 49/2, հեռ.՝ (+37410) 23–25–28
Ֆաքս՝ (+37410) 23–25–95, էլ. փոստ՝ info@zangak.am, էլ. կայք՝ www.zangak.am
Գրախանութ՝ Երևան, Խանջյան փող. 29, հեռ.՝ 54–06–07, էլ. կայք՝ www.book.am