

раствор меди в питьевой воде. Показано, что происходит накопление меди в почках и печени, отмечается существенное накопление меди в митохондриях гепатоцитов и нефроцитов, что может стать причиной угнетения тканевого дыхания.

*Ключевые слова:* металлы, нефроциты, гепатоциты, ядра, цитозоль, митохондрии, микросомы, печень, почки, крысы.

**Martynova S. N., Bryskina N. I. The spread of increased entry of copper to organism in liver and kidneys of rats**

The copper content has been studied in homogenates and cellular fractions of hepatocytes and nephrocytes of Wistar rats to be injected intragastrically by solution of copper in potable water. Accumulation of copper in liver and kidney especially in mitochondria of hepatocytes and nephrocytes was shown. It may be cause of tissue respiration inhibition.

*Key words:* metals, nephrocytes, hepatocytes, nucleus, cytosol, mitochondria, microsoms, liver, kidneys, rats.

УДК 616.831-005-092.9:[615.31:547.856.1:547.792:547.495.9]-07

**С. А. Моргунова, И. Ф. Беленичев**

**ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ТИОХИАЗОЛИНА NS-224, ТИОТРИАЗОЛИНА И НИТРОАРГИНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ**

Мозговые инсульты являются не только медицинской, но и социальной проблемой Евросоюза, США, Канады, Японии и СНГ, являясь причиной ранней смертности населения этих стран, ограничивая социальную активность больных, перенесших инсульт. К сожалению, для состояния организма данный показатель также работает в сторону появления и усугубления проблем в частной и общей жизнедеятельности. Как показывает статистика, после 20 – 25 лет жизни человека промышленно развитых стран, каждое прожитое десятилетие в два раза увеличивает риск развития мозговой катастрофы. Неоспоримым является факт, что инсульт имеет генетическую предрасположенность. Приблизительно у 20 % людей европеоидной расы существует данный генетический вариант, увеличивающий вероятность инсульта на 30 % [1, с. 34]. Но при своевременной и полноценной профилактике данного заболевания можно избежать. По количеству смертельных исходов во всем мире инсульт занимает второе место после инфаркта миокарда. При

этом 25 % больных погибает в течение первого месяца, еще 30 % – в течение года. После перенесенного инсульта полностью восстанавливаются не более 20 % выживших больных [2, с.512].

По данным ВОЗ, общая сумма прямых и непрямых затрат на одного больного с инсультом составляет, в среднем, около 60 тыс. долларов. Однако собственно лечение в течение первого года составляет лишь 25 % от прямых затрат, 75 % идут на уход и общую медпомощь в отдаленные сроки [3, с. 320; 4, с. 71 – 73; 5, с. 1 – 30]. В Украине исследования, касающиеся всех непрямых затрат, пока не проводились, но если предположить, что в нашей стране выделялись бы аналогичные средства на каждого больного, то в целом на проблему инсульта пришлось бы выделить большую часть годового бюджета страны.

В настоящее время арсенал медикаментозных средств лечения мозговых инсультов включает в себя тромболитики, антикоагулянты, блокаторы кальциевых каналов, модуляторы глутаминовых рецепторов, антиоксиданты, ноотропы, нейропептиды. Несмотря на наличие широкого выбора лекарственных средств, проблема лечения мозговых инсультов остается актуальной. Поэтому продолжается целенаправленный поиск веществ с нейропротективными свойствами в ряду различных азогетероциклов и природных соединений. Особый интерес в плане создания препаратов нейропротективного действия представляют модуляторы системы оксида азота, ограничивающие негативное действие нитрозирующего стресса на клетку и регулирующие морфологический тип гибели нейронов в условиях острой ишемии (некроз/апоптоз). Предыдущими работами было установлено, что производные тиохиназолина проявляют антиоксидантное действие в условиях инициирования активных форм кислорода и монооксида азота *in vitro* [6, с. 5 – 10; 7, с. 25 – 30; 8, с. 159 – 164].

Целью настоящего исследования явилось исследование нейропротективного эффекта производного тиохиназолина NC-224 по влиянию на показатели неврологических нарушений и систему оксида азота, обладающего способностью ингибировать цитотоксические дериваты оксида азота *in vitro*, при моделировании острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК).

В работе исследовано производное тиохиназолина, синтезированное на кафедре фармацевтической химии Запорожского государственного медицинского университета (зав.кафедрой, д. фарм. н., профессор И. А. Мазур). Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 170 – 200 г. Крысы получены из питомника ИФТ АМН Украины. Все экспериментальные процедуры и оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с «Положением об использовании лабораторных животных в биомедицинских исследованиях». Острое нарушение мозгового кровообращения вызывали необратимой двусторонней окклюзией общих сонных артерий.

Процедуру выполняли под этаминал-натриевым наркозом (40 мг/кг); посредством хирургического доступа выделяли общие сонные артерии, подводили под них шёлковые лигатуры и перевязывали. Животные были разделены на 5 экспериментальных групп по 20 животных. Первая группа – ложнооперированные животные, вторая – с ОНМК (контрольная), третья – с ОНМК, которым вводили тиотриазолин (50 мг/кг), четвертая – с ОНМК, которым вводили нитроаргинин (10 мг/кг), пятая – с ОНМК с введением NC-224 (25 мг/кг). Изучаемые препараты вводили внутривентриально сразу после выхода животных из наркоза, 1 раз в сутки в течение 4 (острый период) и 18 суток (восстановительный период). Каждый день в течении 18 суток определяли выраженность неврологического дефицита по шкале С. Р. McGrow. По истечении указанных сроков животные выводились из эксперимента под этаминал-натриевым наркозом путем декапитации. Мозг быстро извлекался, отделялись височные доли, которые гомогенизировались в жидком азоте. Проводили биохимические исследования гомогената мозга животных [9, с. 43 – 45; 10, с. 32 – 38; 11, с. 107 – 110; 12, с. 678 – 681]. Активность NO-синтазы определяли по скорости убывания количества НАДФН<sup>+</sup>, содержание нитратов определяли по реакции Грисса [13, с. 40 – 48]. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ «Statistica 4.0» (Statistica Inc. USA). Достоверность отличий относительных величин оценивалась с применением критерия  $\chi^2$ . Достоверными являются отличия с уровнем значимости более 95 % ( $p < 0,05$ ).

В ходе исследования установлено, что двусторонняя перевязка общих сонных артерий вызывала тяжёлые неврологические изменения у животных с максимальным проявлением на 4-е сутки. Так, в эти сроки наблюдения в группе контрольных животных средний балл по шкале С. Р. McGrow составлял 19,7 балла, что соответствует тяжёлой степени неврологической симптоматики. На 4 сутки в контрольной группе выжило 30 % животных. Ишемические и реперфузионные повреждения тканей головного мозга, вызванные окклюзией двух сонных артерий, сопровождаются значительным увеличением активности NO-синтазы (NOS), активацией процессов свободнорадикального окисления (СРО), угнетением антиоксидантной системы [15, с. 69 – 73]. В последнее время довольно широко освещается вопрос о роли оксида азота и его более агрессивных форм в развитии оксидативного стресса при ОНМК [16, с. 265]. Известно, что гиперпродукция NO, обусловленная активацией NMDA-рецепторов, приводит к непосредственному повреждению белковых структур нейрона в острый период ОНМК и принимает участие в опосредствованных и отсроченных повреждениях нейронов. Введение крысам с ОНМК исследуемых соединений оказывало нейропротекторный эффект, о чем свидетельствовало

уменьшение летальности на 18-е сутки эксперимента. Значительно выделялось NC-224, которое достоверно снижало проявления неврологической симптоматики, превосходя по показателям шкалы С. Р. McGrow тиотриазолин.

*Таблица 1*

**Влияние исследуемых препаратов на выживаемость и развитие неврологического дефицита животных в различные сроки после ОНМК**

Группы животных	Средний балл по шкале С. Р. McGrow		Кол-во выживших животных, %
	4-е сутки	18-е сутки	
Животные с ОНМК (контроль)	19,7 ± 2,15	7,3 ± 0,77	30
Животные с ОНМК + NC-224	11,0 ± 1,00*	3,0 ± 0,25*	60*
Животные с ОНМК + нитроаргинин	14,0 ± 1,77	4,5 ± 0,85	50
Животные с ОНМК + тиотриазолин	15,8 ± 2,8	5,6 ± 0,72	50
Ложнооперированные животные (интакт)	0,88±0,11	0,00±0,00	100

Примечание: \* – достоверность отличия ( $p < 0,05$ ) по отношению к контрольной группе.

*Таблица 2*

**Влияние исследуемых препаратов на содержание стабильных метаболитов оксида азота и активность NO-синтазы в мозге крыс на 4-е сутки ОНМК**

Группа животных	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мкмоль/г белка	NO-синтаза, нмоль/г ткани/мин
Ложнооперированные животные	18,3 ± 1,72	2,37 ± 0,52
Животные с ОНМК (контроль)	51,7 ± 1,21	5,77 ± 0,21
Животные с ОНМК + тиотриазолин	48,0 ± 2,20	4,87 ± 0,37
Животные с ОНМК + NC-224	19,7 ± 1,33*	3,21 ± 0,67*
Животные с ОНМК + нитроаргинин	31,0 ± 1,57*	4,18 ± 0,71*

Примечание: \* – достоверность отличия ( $p < 0,05$ ) по отношению к контрольной группе.

В литературе довольно широко освещается вопрос о роли оксида азота и его более агрессивных форм в развитии оксидативного стресса при ОНМК [17, с. 32 – 38; 18, с. 267]. Наиболее выраженным нейропротекторным эффектом обладал NC-224. Таким образом, назначение в острый и восстановительный период мозговых инсультов препаратов, ограничивающих образование цитотоксических дериватов оксида азота, как за счет торможения NO-синтаз, так и за счет «улавливания» самих дериватов, оказывало выраженное нейропротекторное действие, направленное на снижение летальности и уменьшение неврологических нарушений у животных с ОНМК.

Подведя итоги, отметим:

1. Соединение NC-224 ослабляет развитие неврологического дефицита, ускоряет восстановление неврологического статуса животных с двусторонней перевязкой общих сонных артерий.

2. Исследуемое вещество NC-224 является перспективным с точки зрения поиска препаратов с нейропротективными свойствами.

### **Литература**

- 1. Torshin I. Yu.** Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine / I. Yu. Torshin. – NY, USA : Nova Biomedical Books, 2007; ISBN : 1600217524 : 34 – 68. **2. Медик В. А.** Заболеваемость населения: история, современное состояние и методология изучения / В. А. Медик. – М. : Медицина, 2003. – 512 с. **3. Гаврилова С. И.** Фармакотерапия болезни Альцгеймера / С. И. Гаврилова. – М. : Пульс, 2003. – 320 с. **4. Хачински В.** Инсульт: решение проблемы на повестке дня // Цереброваскулярная патология и инсульт : материалы II Российского международного конгресса / В. Хачински. – М. : МедиаСфера, 2007. – С. 71 – 73. **5. Cost of disorders of the brain in Europe** / P. Andlin-Sobocki, B. Jonson, H. Wittchen, J. Olesen // European Journal of neurology. – 2005. – No. 12 (Suppl. 1). – P. 1 – 30. **6. Геномозахисні** властивості S-вмісних похідних хіназолонів – сполук НКС-153, NC-109 за умов отруєння тетрахлорметаном. Дослідження *in vivo* / Ю. І. Губський, Є. Л. Левицький, Г. Г. Горюшко та ін. // Мед. хімія. – 2007. – Т. 9, № 4. – С. 5 – 10. **7. Геномо-** та мембранозахисна дія нових N-вмісних похідних хіназолонів *in vivo* за умов інтоксикації щурів тетрахлорметаном / Ю. І. Губський, Є. Л. Левицький, І. Ф. Беленічев та ін. // Совр. пробл. токсикол. – 2007. – № 4. – С. 25 – 30. **8. Антиоксидантна** активність конденсованих похідних [1,2,4]-триазолонів в умовах нітрозуючого стресу / Ю. І. Губський, І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький та ін. // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 5. – С. 159 – 164. **9. Дубкіна О. Ю.** Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків / О. Ю. Дубкіна // Мед. хімія. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 43 – 45. **10. Беленічев І. Ф.** Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, Ю. І. Губський // Совр. пробл. токсикол. – 2003. – № 2. – С. 32 – 38. **11. Вплив** композиції «Магнелонг», гліцину, емоксипіну та пірацетаму на розвиток оксидативного стресу в мозку щурів з гострими порушеннями мозкового кровообігу (ішемічний інсульт) / І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова, В. В. Головкін, Н. В. Бухтіярова // Мед. хімія. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 107 – 110. **12. Чевари С.** Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Сеней // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 678 – 681. **13. Горбунов Н. В.** Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитными глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток-зерен мозжечка / Н. В. Горбунов // Бюл. эксперим. биологии и

медицины. – 1995. – № 7. – С. 40 – 48. **14. Пирс Э.** Гистохимия / Э. Пирс. – М., 1962. – 962 с. **15. Поварова О. В.** Антиоксиданты как нейропротекторы при ишемическом инсульте / О. В. Поварова, Е. И. Городецкая, О. С. Медведев // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2003. – Т. 66, № 3. – С. 69 – 73. **16. Chiueh C.** The neurobiology of NO and OH / C. Chiueh. – N. Y. : Acad. Sci., 1994. – 265 p. **17. Беленічев І. Ф.** Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Беленічев, Е. Л. Левицький, Ю. І. Губський // Совр. пробл. токсикол. – 2003. – № 2. – С.32 – 38. **18. Беленичев И. Ф.** Рациональная нейропротекция / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник. – Донецк : Издательский Дом Заславского, 2009. – 267 с.

**Моргунцова С. А., Беленічев І. Ф. Вплив похідного тіохіназоліну NC-224, тіотриазоліну і нітроаргініну на показники оксидативного стресу та неврологічного статусу тварин з експериментальним порушенням мозкового кровообігу**

Ішемічний інсульт впевнено лідирує після інфаркту міокарда за кількістю смертельних випадків. Проблема лікування мозкових порушень залишається актуальною не дивлячись на широкий вибір лікарських препаратів. У роботі досліджено похідне тіохіназоліну NC-224, яке є перспективним з точки зору пошуку речовин з нейропротекторними властивостями.

*Ключові слова:* інсульт, «окислювальний стрес», нейропротектор.

**Моргунцова С. А., Беленичев И. Ф. Влияние производного тиохиназолина NC-224, тиотриазолина и нитроаргинина на показатели оксидативного стресса и неврологического статуса животных с экспериментальным нарушением мозгового кровообращения**

Ишемический инсульт уверенно лидирует после инфаркта миокарда по количеству смертельных исходов. Проблема лечения мозговых нарушений актуальна, несмотря на широкий диапазон лекарственных препаратов. В работе исследовано производное тиохиназолина NC-224, которое является перспективным с точки зрения поиска веществ с нейропротекторными свойствами.

*Ключевые слова:* инсульт, «окислительный стресс» нейропротектор.

**Morguntsova S. A., Belenichev I. F. Influence of a derivative tiokhinazolin NC-224, tiotriazolin and nitroarginine on parameters oxidation stress and the neurologic status of animals experimental infringement brain blood circulations**

Stroke firmly takes the second place after myocardial infarction according to the number of fatal outcomes. The problem of cerebral stroke

treatment is actual despite the presence of wide range of medicinal preparations. The derivative of tiokhinazolin NC-224, which is perspective from the view point of search of preparations with neuroprotective properties, is investigated in present work.

*Key words:* stroke, «oxidation stress», neuroprotector.

УДК 616.006.04:615.37:579.852.11:577.113:57.083.3

**С. В. Олишевский, В. В. Козак, Ю. В. Яниш,  
В. А. Шляховенко**

**ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЕ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ  
СВОЙСТВА CpG ДНК ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ  
*BACILLUS SUBTILIS***

Бактериальная ДНК, в отличие от ДНК позвоночных, содержит относительно большое количество неметилированных CpG-динуклеотидов, отвечающих за ее выраженные иммуностимулирующие свойства [1; 2]. Известно, что ДНК, обогащенная неметилированными CpG-последовательностями, является более мощным Тх1-адьювантом даже по сравнению с полным адьювантом Фрейнда [2 – 4]. Сегодня иммунотерапевтическое применение CpG ДНК рассматривается как перспективная стратегия для лечения и предупреждения различных инфекционных болезней, аллергии и злокачественных новообразований [5 – 8].

В предыдущих исследованиях было показано, что введение мышам бактериальной CpG ДНК (бCpG ДНК), выделенной из культуральной жидкости *Bacillus subtilis*, приводит к транзиторному развитию у них спленомегалии, гиперплазии лимфатических узлов и асептического перитонита [9]. В условиях *in vitro* выявлено, что такая ДНК повышает цитотоксическую активность естественных киллерных клеток и является мощным индуктором интерферонов [10].

Целью данной работы было исследование влияния бCpG ДНК из культуральной жидкости *B. subtilis* на развитие клеточного и гуморального иммунного ответа у мышей, а также изучение возможности ее применения в экспериментальной биотерапии злокачественных новообразований.

В эксперименте использовали 3-месячных мышей линий СВА и BALB/c разводки вивария ИЭПОР им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины. Все исследования проведены при соблюдении правил этического обращения с лабораторными животными. Бактериальная CpG ДНК была выделена из культуральной жидкости *B. subtilis* GP1-807-03 согласно