

**Димерный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 проявляет нейропротективную активность и восстанавливает поведенческий дефицит на модели неполной глобальной ишемии мозга крыс**

**П. Ю. Поварнина, С. В. Николаев**

**ФГБУ «НИИ фармакологии им. В. В. Закусова» РАМН, Москва**

В НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН был создан димерный дипептидный миметик NGF ГК-2 [Т. А. Гудашева и др., 2010]. Пептид ГК-2 продемонстрировал высокую NGF-подобную нейропротективную активность в наномолярных концентрациях *in vitro* [Т. А. Антипов и др., 2010], а также нейропротективную активность *in vivo* на моделях фокальной ишемии головного мозга [С. Б. Середенин и др., 2010; С. Б. Середенин и др., 2011]. Целью данной работы было изучение поведенческих и биохимических эффектов ГК-2 на модели неполной глобальной ишемии головного мозга крыс.

Эксперименты были проведены на 55 беспородных белых крысах-самцах. Пептид ГК-2 (0,5 мг/кг) вводили внутрибрюшинно через 4 ч после операции, а затем каждые 24 ч, всего 8 раз. Эксперимент включал следующие этапы: операцию по перевязке сонных артерий; через 1–2 недели после операции оценку поведенческих параметров в тестах «Открытое поле» и «Исследование новых объектов», затем декапитацию части животных ( $n \geq 6$  для каждой группы), извлечение головного мозга, оценку жизнеспособности клеток коры и гиппокампа (МТТ-тест), определение содержания NGF и HSP70 в коре и гиппокампе (Вестерн-блот анализ), через 3,5 мес. после операции — оценку памяти в teste «Распознавание объектов» ( $n \geq 6$  для каждой группы).

Через 1–2 недели после операции ишемия вызывала гибель 40 % крыс, нарушение угашения ориентировочно-исследовательской реакции (habituation) и снижение времени исследования новых объектов, снижение выживаемости клеток коры головного мозга, снижение содержания NGF и увеличение синтеза HSP70 в коре, увеличение уровня NGF в гиппокампе. Дипептид ГК-2 полностью предотвращал смертность животных после операции, снижал поведенческий дефицит, полностью восстанавливал жизнеспособность клеток коры головного мозга и препятствовал гиперэкспрессии HSP70 в коре. Через 3,5 мес. после операции у ишемизированных крыс было выявлено нарушение памяти в teste «Распознавание объектов». Препарат ГК-2 предотвращал развитие данного нарушения.

Дипептидный миметик NGF ГК-2 при лечебном субхроническом введении в условиях неполной глобальной ишемии обладает нейропротективной активностью, предотвращает гибель животных и развитие как кратковременных, так и долговременных нарушений когнитивных функций.

**Противовоспалительные свойства дитерпеновых алкалоидов аконита байкальского**

**Т. Н. Поветьева<sup>1</sup>, Ю. В. Нестерова<sup>1</sup>, А. В. Крапивин<sup>1</sup>, С. В. Пушкинский<sup>1</sup>, А. А. Семенов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, Томск;

<sup>2</sup>Национально-исследовательский технический университет, Иркутск

**Цель.** Изучить противовоспалительную активность суммарной алкалоидной фракции и отдельно выделенных алкалоидов (зонгорина, напеллина, гипаконитина, мезаконитина, N-окись 12-эпинапеллина), полученных из надземной части аконита байкальского.

**Методы.** Работа выполнена на белых аутбредных CD1 мышах и крысах. Противовоспалительное действие дитерпеновых алкалоидов исследовано согласно Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (2002). В качестве препаратов сравнения использовали индометацин (10 мг/кг — мышам; 6 мг/кг — крысам) и метамизол натрий (250 мг/кг). Алкалоиды вводились в дозах: 0,05 мг/кг — мышам и 0,025 мг/кг — крысам; при моделировании перитонита — в диапазоне доз (0,025; 0,0125; 0,0063 мг/кг). Исследуемые

средства назначали либо профилактическим курсом *per os* в течение 5 сут, последнее — за 1 ч до воздействия, либо в лечебном режиме. Полученные результаты обрабатывали методами параметрической и непараметрической статистики.

**Результаты.** Исследования с использованием каррагениновой модели воспаления на мышах показали, что алкалоиды были наиболее эффективны при применении в лечебном режиме (утнетение отека в порядке убывания): N-окись 12-эпинапеллина (39 %) > мезаконитин (34 %) > индометацин (28 %) > зонгорин (27 %) > сумма алкалоидов (20 %) > напеллин (13 %). При моделировании перитонита у мышей противовоспалительная активность, судя по снижению объема асцита, распределилась следующим образом: напеллин (77 %) > метамизол натрий (62 %) > гипаконитин (42 %) > зонгорин (41 %) > N-окись 12-эпинапеллина (38 %) > сумма алкалоидов (27 %). При моделировании «ватной» грануллемы утнетение пролиферации наблюдали в следующей последовательности: зонгорин (33 %) > сумма алкалоидов (27 %) > напеллин (22 %) > гипаконитин (16 %) > индометацин (13 %). Следует отметить, что под действием изучаемых алкалоидов достоверно снижалась и масса экссудата в очаге хронического воспаления на 24–31 %. Наиболее противовоспалительное действие на модели воспаления, вызванного адьювантом Фрейнда, оказывали алкалоиды (динамика наблюдения утнетения отека в порядке убывания активности): N-окись 12-эпинапеллина > зонгорин > напеллин > гипаконитин > индометацин > сумма алкалоидов.

**Выводы.** Дитерпеновые алкалоиды аконита байкальского: зонгорин, напеллин, N-окись 12-эпинапеллина, гипаконитин, мезаконитин и суммарная алкалоидная фракция обладают выраженным противовоспалительным действием, зачастую, не уступающим по своей эффективности индометацину и метамизолу натрия.

**Исследование дозозависимых эндотелио- и кардиотропных эффектов тадалафила и его комбинаций с L-аргинином**

**Т. Г. Покровская, М. В. Покровский, Э. Н. Дудина, В. И. Кочкарёв, А. А. Арутюнова, Ю. А. Хощенко, А. П. Григоренко, М. В. Корокин, О. С. Гудырев**

**ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород**

**Цель.** Провести оценку эндотелио- и кардиопротективных эффектов ингибиторов фосфодиэстеразы-5 тадалафила и его комбинаций с L-аргинином при моделировании L-NAME-индивидуированного дефицита оксида азота в эксперименте.

**Методы.** Опыты проводились на белых крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г. N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился ежедневно, внутрибрюшинно, в дозе 25 мг/кг/сут. Тадалафил в большей и меньшей дозах — 0,9 и 0,09 мг/кг (Tб и Tм) и их комбинации с L-аргинином — 200 мг/кг (TбА и TмА) вводились на фоне введения L-NAME. На 8 день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) проводили оценку сосудистых и миокардиальных проб, посредством датчика TSD104A и АПК MP100 (Biopac System, Inc., США) с введением ацетилхолина (АХ), нитропруссида (НП), адреналина (АДр) и пережатием восходящего отдела аорты (НС).

**Результаты.** Отношение площади под трендом вазодилатации на введение АХ к НП по показателю среднего АД математически представлено нами в виде коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД). В наших экспериментах КЭД в группе интактных животных составил  $1,1 \pm 0,09$ , на фоне введения L-NAME —  $5,4 \pm 0,08$ . КЭД в группах Тб и Тм составили  $1,9 \pm 0,1$  и  $2,9 \pm 0,1$  ( $p < 0,05$ ). В группе ТбА КЭД не изменился, а в группе ТмА КЭД уменьшился до  $2,1 \pm 0,1$  ( $p < 0,05$ ). У интактных животных значения ЛЖД при введении Адр составили  $199,2 \pm 8,3$ , в группе L-NAME —  $247,3 \pm 4,8$  в группах Тб и Тм —  $224,6 \pm 9,4$  и  $235,4 \pm 10,9$ , а в группах ТбА и ТмА достоверно снижались до  $204,6 \pm 8,5$  и  $215,5 \pm 9,8$  мм рт.ст. Отношение прироста значений ЛЖД на 5-й к 25-й секунде пережатия восходящего отдела аорты в пробе с НС у интактных животных составило  $83,6 \pm 2,1$  %, у группы L-NAME —  $66,0 \pm 2,3$  %, в группах Тб и Тм —  $82,4 \pm$

$\pm 4,1\%$  и  $70,3 \pm 2,4\%$ . Прирост миокардиального резерва наблюдался только в группе ТмА и составил  $83,7 \pm 6,5\%$ .

**Выводы.** Тадалафил проявил дозозависимое эндотелио- и кардиопротективное действие. Комбинации тадалафила в обеих дозах с L-аргинином проявили межлекарственное антигипертензивное и предотвращающее повышение аденоактивности взаимодействие. Комбинация ТмА проявила наибольшее межлекарственное эндотелиопротективное взаимодействие, проявившееся в отношении снижения КЭД и кардиопротективное — в дополнительном приросте миокардиального резерва. Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ № МК-905.2012.4.

### Стимуляции неоваскулогенеза рекомбинантным эритропоэтином

М. В. Покровский<sup>1</sup>, Т. Г. Покровская<sup>1</sup>,  
А. А. Арутюнова<sup>1</sup>, И. М. Колесник<sup>2</sup>, М. С. Сахаров<sup>1</sup>,  
И. А. Коробцова<sup>1</sup>, С. В. Мягченко<sup>1</sup>, А. Ю.  
Четверикова<sup>1</sup>, В. А. Филимонов<sup>2</sup>, О. В. Молчанова<sup>1</sup>,  
Е. А. Шмыкова<sup>1</sup>, Н. Н. Исаиченко<sup>1</sup>, С. В. Ходов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, Курск

**Цель.** Исследовать влияние рекомбинантного эритропоэтина (ЕРО) в субэритростимулирующей дозе на неоангиогенез в ишемизированной мышце голени крысы.

**Методы.** Опыты проводили на половозрелых самках белых крыс линии Wistar массой 250–300 г. Ишемия моделируется на мышцах правой голени крысы оперативным удалением участка магистральных сосудов, включающего бедренную, подколенную, переднюю и заднюю большеберцовые артерии. Уровень микроциркуляции в мышцах голени определяется при помощи полиграфа MP100 (Biopac systems) с модулем LDF100C. Регистрация и обработка результатов лазерной допплеровской флюометрии (ЛДФ) производится с помощью программы AcqKnowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ). Кроме того, проводили гистологического исследование ишемизированной мышцы. Запись уровня микроциркуляции осуществляют в пяти точках (середина длины мышцы, точки на 3–5 мм выше и ниже, латеральное и медиальное первые). ЕРО вводили подкожно в субэритростимулирующей дозе 50 МЕ/кг на первые, третий и пятые сутки эксперимента. В каждую группу включалось 20 животных.

**Результаты.** Среднее значение уровня микроциркуляции (МЦ) в интактной мышце голени крыс составляет  $526 \pm 34$  ПЕ. После моделирования ишемии мыши голени МЦ резко снижается, восстановление ее начинается после 14 сут. Наиболее информативными расценены 28-е сутки ишемии ( $361 \pm 8$  ПЕ), 21-е рассматривались как промежуточные ( $322 \pm 6$  ПЕ). Введение ЕРО способствуют эффективному повышению уровня регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс. Показатели ЛДФ в группе с введением ЕРО составили на 21-е сутки — ( $441 \pm 10$  ПЕ) ( $p < 0,05$ ), 28-е сутки — ( $753 \pm 13$  ПЕ) ( $p < 0,05$ ). В ишемизированных мышцах голени крыс, получавших ЕРО, по результатам гистологического исследования отмечено усиленное новообразование капилляров, более выраженное на 28-е сутки. В контрольной серии восстановление исходного значения наблюдается значительно позже (в срок до 3 мес).

**Выводы.** В данном исследовании мы показали, что рекомбинантный эритропоэтин оказывает эффективное стимулирующее влияние на неоваскулогенез в ишемизированной мышце голени крысы. Полученные результаты позволяют проводить дальнейшие экспериментальные исследования возможности фармакологического прекондиционирования рекомбинантным эритропоэтином. Исследование проводилось при выполнении НИОКР в рамках государственного задания (проект госконтракта № 4.913.2011) и при поддержке гранта Президента РФ № МК-905.2012.4.

### Оценка содержания катехоламинов, серотонина и их метаболитов в стриатуме на модели леводопа-индукционных дискинезий (ЛИД) у крыс с паркинсоническим синдромом

А. В. Пономарев

ФГБУ «НИИ фармакологии им. В. В. Закусова» РАМН, Москва

**Целью** исследования была характеристика нейрохимических изменений в стриатуме при моделировании ЛИД у крыс с паркинсоническим синдромом (ПС), индуцированным 6-гидроксидафином (6-ГОДА).

**Методы.** ПС вызывали введением 6-ГОДА в левую черную субстанцию, контрольным животным (ЛО) вводился физиологический раствор. ЛИД вызывали ежедневным введением леводопы (10 мг/кг, в/б) с бенсеразидом (15 мг/кг, в/б). Введение начинали через 21 после операции и продолжали 45 дней. Содержание дофамина (ДА), метаболитов — 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), 3-метокситирамина (3-МТ) и гомованилиновой кислоты (ГВК), серотонина и его метаболита: 5-оксингидоксусной кислоты (5-ОИУК) в левом и правом (неповрежденном) стриатуме изучали методом ВЭЖХ с ЭД.

**Результаты.** У крыс с ПС по сравнению с ЛО достоверно уменьшалась концентрация метаболитов ДА: в левом стриатуме — ДОФУК на 40 %, ГВК на 49 %, в правом — на 28 и 39 %, соответственно. Метаболизм ДА в правом стриатуме снижался незначительно — показатель ДОФУК/ДА на 14 %, ГВК/ДА на 26 %. У крыс с ЛИД обнаружены значительное повышение уровня ДА и его метаболитов только в правом стриатуме по сравнению как с группой ПС, так и ЛО. Содержание ДА было выше на 92 и 62 %, ДОФУК — на 111 и 52 %, 3-МТ — на 75 и 65 %, соответственно. Уровень ГВК был выше на 75 % по сравнению с группой ПС, а показатель ГВК/ДА снижался как в правом стриатуме на 32 %, так и в левом на 30 % по отношению к группе ЛО. Уровень серотонина был также выше в группе ЛИД по сравнению и с ПС, и с ЛО. В левом стриатуме на 67 и 73 %, в правом на 76 и 74 %. Уровень 5-ОИУК был выше в правом стриатуме на 62 и 59 % к группам ПС и ЛО, соответственно. В левом стриатуме уровень 5-ОИУК был выше на 53 % только по сравнению с ПС.

**Выводы.** На модели 6-ГОДА индуцированного ПС показано снижение уровня метаболитов ДА и обратного ДА как на стороне повреждения, так и в контраполатеральном стриатуме. На модели ЛИД установлено значительное повышение по сравнению с группой ЛО уровня ДА, серотонина и его метаболитов в стриатуме на стороне повреждения и контраполатерально. Полученные нейрохимические характеристики модели ЛИД позволяют проводить оценку эффективности антидискинетических препаратов.

### Изучение острой токсичности нового препарата ионизированного серебра

Н. С. Пономарь, Ю. С. Макляков, Д. П. Хлопонин,  
З. С. Саядова, Н. Ю. Саенко

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, Ростов-на-Дону

**Цель** исследования заключалась в анализе острой токсичности нового препарата ионизированного серебра (ПС) на крысах.

В рамках I фазы токсикологического исследования ПС (НИИ Градиент, Ростов н/Д) проводили оценку его «острой токсичности» на 160 белых нелинейных крысах обоего пола весом 130–150 г при 1-кратном и дробном, через короткие (3–6 ч) интервалы времени, введении в течение суток. В течение 2 недель наблюдения у крыс анализировались параметры поведенческих, нервно-мышечных и вегетативных реакций. ПС вводили в организм через зонд в желудок (после разведения) и внутрибрюшинно. Для определения токсических доз использовался маточный раствор ПС с концентрацией ионов серебра 200 мг/л, что в 4000 раз превышает их ПДК в водопроводной воде. Животные были разделены на 16 групп (по 10 крыс в каждой) в зависимости от вида вводимого раствора — физиологического (контрольные группы) или рабочего раствора ПС (опытные), а также режима дозирования (пути и кратности введения, концентрации ионов серебра и объема рас-