

300 мг/кг, что соответствует 16 у. е. В дальнейшем же предикторы побочных реакций нарастают, что сопряжено со снижением фармакологической эффективности вещества, но побочные эффекты вещества в диапазоне активности от 300 до 1200 мг/кг обратимы. Учитывая это, можно предположить, что вещество ВМА-99-82 безопасно в плане его энтерального введения крысам в дозах до 1200 мг/кг, а значит уровень его безопасного действия (диапазон точек 1–7 или от 18,7 до 1200 мг/кг) равен 64 у. е.

Токсическое действие у вещества прослеживается в дозах от 2400 до 4800 мг/кг. В данном диапазоне доз (8–9-е точки на интегральной "дозовой траектории") эффекты влияния вещества были необратимы, инвертированы диапазону активности 2 и 3, т. е. их можно расценивать как токсические (ТУ). При расчете ($TU = 4800/18,7$) установили, что достоверно токсический уровень вещества ВМА-99-82 оказался равным от 128 до 256 у. е.

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно заключить, что по степени токсичности новое противовирусное средство относится к классу малотоксичных соединений. При этом установленные интегральным путем значения диапазонов терапевтического (16 у. е.) и токсического (256 у. е.) уровня действий отражают степень "пользы/риска" данного вещества и могут быть использованы в доклиническом обосновании критериев его безопасности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петров В.И., Озеров А.А., Новиков М.С. и др. // Химия гетероциклич. соед. – 2003. – Вып. 9. – С. 1389–1397.
2. Петров В.И., Озеров А.А., Новиков М.С. // Тез. II Съезда Рос. науч. общ. фармакол. – М., 2003. – Ч. 2. – С. 79.
3. Irvin S. // Animal and Clinical Pharmacologic Techniques in Drug Evaluation. – Chicago, 1964.
4. Бугаева Л.И., Веровский В.Е., Иежица И.Н. и др. // Эксп. клин. фармакол. – 2000. – Т. 63, № 1. – С. 3–6.
5. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л: Медгиз, 1961. – 152 с.

ПРОТИВОСТРЕССОРНЫЕ И ИММУНОМОДЕЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА МАЛЫХ ДОЗ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНА

**М.В. Кондашевская, О.В. Макарова,
В.Л. Ковалева**

*ГУ НИИ морфологии человека РАМН,
Всероссийский научный центр биологически
активных веществ, г. Москва*

Эмоциональные стрессы, как сейчас бесспорно установлено, являются главной причиной иммунодефицитных состояний и повышения заболеваемости вирусными инфекциями. Для профилактики и лечения вирусных заболеваний следует включать препараты, оказывающие комплексное противовирусное, иммуномодулирующее и антистрессорное действие.

Мы предположили, что таким препаратом является высокомолекулярный гепарин (ВМГ), относящийся к классу гликозаминогликанов. ВМГ ингибирует инфицирование клеток многими разновидно-

стями вирусов, воздействуя на АТФ-азу и транскрипцию РНК в бактериальных клетках. Кроме того, ВМГ играет важную роль в воспалительных реакциях и иммунном ответе [5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Настоящее исследование направлено на экспериментальную проверку гипотезы о возможности влияния высокомолекулярного гепарина на психоэмоциональные, поведенческие, когнитивные (познавательные) характеристики и функциональную активность нейтрофилов периферической крови крыс Вистар при курсовом введении в дозе ниже терапевтической.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на самцах крыс аутбредной линии Вистар с массой тела 250–280 г ($n = 90$), которых содержали в отдельных клетках группами по 10 особей. Опытная группа до обучения в многоальтернативном лабиринте получала ВМГ (фирма "Serva") в дозе 64 МЕ/кг (внутримышечно, 1 р/день, 5 сут.). Контролем служили интактные животные (ИК) и крысы, которым вводили 0,3 мл 0,9% физиологического раствора (ФР).

Для исследований функциональной активности нейтрофилов приготавливали мазки периферической крови, которые окрашивали по В.Е. Пигаревскому с соавт. [2]. Содержание лизосомально-катионных белков определяли полуколичественным методом, вычисляя средний цитохимический коэффициент.

Информационный стресс создавали в модельных условиях обучения в многоальтернативном лабиринте, где животные должны были по методике свободного выбора (без вмешательства экспериментатора) найти правило многократного получения пищи в течение опыта: после взятия пищи (семечки подсолнуха) в одной или двух кормушках из четырех, имеющихся в лабиринте, животные должны были самопроизвольно покинуть пищевую среду – выйти в свободное поле (не пищевую среду), для того чтобы, вновь зайдя в лабиринт, иметь возможность получить новую порцию корма в тех же кормушках. Регистрировали локомоторную активность, число заходов в лабиринт, количество подкреплений и ошибок, совершенных за опыт. Анализ психоэмоционального состояния крыс во время процесса обучения производили на основании подсчета безусловных реакций, которые затем подразделяли на активные и пассивные классы. Подробное описание поведенческой модели описано в ряде публикаций (Никольская К.А. с соавт., 1998). Обучение проводили ежедневно в течение 20 дней.

Регистрация и первичный анализ данных осуществлялись с помощью компьютерной программы "Labyrinth" [1]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью статистического пакета "STATGRAF" для Windows 6.0. и "ANOVA", достоверность значений оценивали по критерию Колмогорова–Смирнова и t -критерию

Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В группе ИК (пассивный контроль) только 40% особей были способны сформировать пищедобывательное поведение. Остальные 60% ($n = 22$) "отказывались" обучаться. У этих животных доминировали реакции страха, проявляющиеся в виде частых дефекаций и мочеиспусканий и др.

Курсовое введение ФР (активный контроль) привело к формированию устойчивой оборонительной доминанты, выразившейся в резком (в 2,3 раза) снижении мотивационной и двигательной активности, возрастании доли пассивных форм безусловных реакций. 90% крыс группы активного контроля "отказались" обучаться в проблемной ситуации.

ВМГ в дозе 64 МЕ/кг оказал весьма сильное активирующее воздействие на процесс обучения. 90% этих крыс, вместо 40% крыс в группе пассивного контроля и 10% в группе активного контроля, смогли самостоятельно решить предложенную задачу. У этой группы крыс не только ассоциативные, но и тормозные процессы осуществлялись значимо лучше, чем у контрольных групп животных. Сильные активирующие эффекты ВМГ в дозе 64 МЕ/кг выявлялись у животных с исходно подавленными признаками познавательной деятельности, которые без фармакологического воздействия не способны к обучению. Указанные эффекты ВМГ в дозе 64 МЕ/кг устойчиво проявлялись на протяжении 20 суток после отмены препарата.

Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что ВМГ в дозе 64 МЕ/кг обладает эффектами антидепрессанта, анксиолитика и психостимулятора.

Среди "некогнитивных" воздействий ВМГ было изучено его влияние на состояние иммунной системы. Нейтрофилы занимают одну из ключевых позиций в системе гуморально-клеточной кооперации крови и соединительной ткани, что делает их универсальной мишенью и индикатором многочисленных нарушений гомеостаза. Одними из наиболее важных веществ содержимого гранул нейтрофилов, способных активно участвовать в регуляции гомеостаза организма, являются катионные белки [2]. После пятикратного введения ВМГ в дозе 64 МЕ/кг, как без обучения, так и после обучения, по сравнению с обеими группами (без обучения и после обучения) ИК наблюдалось снижение содержания катионных белков нейтрофилов периферической крови. По-видимому, ВМГ в дозе 64 МЕ/кг вызвал инициацию процессов секреторной дегрануляции нейтрофилов, в результате чего уровень катионных белков в нейтрофилах снизился. Активация нейтрофилов обычно сопровождается экзоцитозом гранул и гранулолизисом. Секретируемые нейтрофилами продукты

оказывают регуляторное влияние на другие клетки и медиаторные системы. Из источников литературы известно, что гепарин может активировать процесс секреторной дегрануляции нейтрофилов [4]. Вероятно, это связано со способностью гепарина регулировать каталитический потенциал фосфолипаз и инозитол-1,4,5-трифосфата, являющихся ключевыми агентами инициальных реакций процесса секреторной дегрануляции [3].

В группе ИК, прошедших обучение в многоальтернативном лабиринте, содержание катионных белков в нейтрофилах достоверно не отличалось от группы не обучавшихся ИК. Содержание катионных белков в нейтрофилах периферической крови у обеих групп крыс, получавших ФР, оказалось достоверно выше, чем у обеих групп ИК. При сравнении групп крыс, получавших ФР, выяснилось, что после обучения уровень катионных белков был достоверно большим, чем в группе не обучавшихся крыс. Повышение содержания катионных белков в нейтрофилах может свидетельствовать об усилении их миграции из костного мозга и нарушении процессов секреторной дегрануляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в наших исследованиях мы продемонстрировали, что высокомолекулярный гепарин в дозе 64 МЕ/кг оказывает противострессорное, анксиолитическое, антидепрессивное, психостимулирующее действие и модулирует функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hatakeyama M., Imaizumi T., Tamo W., et al. // *Inflammation*. – 2004. – Vol. 28, № 1. – P. 7–13.
2. Пугаревский В.Е., Мазинг Ю.А. // *Лаб. дело*. – 1981. – № 10. – С. 579–582.
3. Никольская К.А., Еценко О.В., Шпинькова В.Н. и др. // *Вестн. МГУ*. – Сер. 3. – 1998. – № 3. – С. 75–79.
4. Freischlag J.A., Colburn M.D., Moore W.S. // *J. Surg. Res.* – 1992. – Vol. 52, № 5. – P. 523–529.
5. Diccianni M.B., Mistry M.J., Hug K., et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1990. – Vol. 1046, № 3. – P. 242–248.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО АДЕНИНА С ПРОТИВОВИРУСНЫМИ СВОЙСТВАМИ В СУБХРОНИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

С.А. Лебедева, А.С. Полторацкий,
Л.И. Бугаева

НИИ фармакологии ВолГМУ

В НИИ фармакологии ВолГМУ было получено новое противовирусное лекарственное вещество – 9-[2-(4-изопропилфенокс)этил]аденин под лабораторным шифром ВМА-99-82, которое планируется внедрять в клиническую практику. Учитывая вышесказанное, изучение безопасности и токсикологических свойств для новых веществ, планируемых в даль-