

УДК 616.12-008.331.1

Л. І. Чернега, Л. А. Ковалевська

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ДИРОТОНУ І СТАМЛО У КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ

Проведено лікування 56 хворих на ІХС, нестабільну стенокардію прогресуючого перебігу та гіпертонічну хворобу II ступеня. Хворі були поділені на 2 групи. Перша група хворих (25 осіб) отримували з гіпотензивною метою диротон дозою 5 мг, згодом — 10 мг; стамло — 5 мг, потім дозу збільшували до 10 мг.

Дослідження показало, що як систолічний, так і діастолічний АТ вірогідно знижується при застосуванні диротону, але більш виражений гіпотензивний ефект при комплексному застосуванні диротону і стамло, яке сприяє нормалізації циркадного циклу.

**Ключові слова:** ІХС, артеріальна гіпертензія, диротон, стамло.

UDC 616.12-008.331.1.

L. I. Chernega, L. A. Kovalevska

## EFFICIENCY OF DIROTON AND STAMLO APPLICATION IN COMPLEX TREATMENT OF THE PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

The treatment of 56 patients suffering from IHD, instable stenocardia of progressing current and essential hypertension of II degree. The patients are divided into 2 groups. 1st group (25 patients) received (with hypotensial purpose) diroton 5 mg, then 10 mg; stamlo 5 mg, then doze of stamlo was increased up to 10 mg.

As a result of supervision was established, that the AP both systolic, and dyastolic is authentically reduced at application of diroton, but hypotensial effect at combined application of dirotone and stamlo is more expressed. Also was established, that the application of dirotone and stamlo promotes circade rhythm normalization.

**Key words:** IHD, arterial hypertension, dirotone, stamlo, treatment.

УДК 616.45-001.1/3:616.36

В. В. Кресюн, канд. мед. наук, доц.

## МЕТАБОЛІЧНІ ЗРУШЕННЯ ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ $\gamma$ -ОПРОМІНЕННЯ І ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ

Одеський державний медичний університет

Відомо, що метаболічні зрушення в організмі є однією з головних причин розвитку цілої низки захворювань. У першу чергу це стосується учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС і жителів навколишньої зони, які зазнали дії зовнішнього та внутрішнього опромінення малими дозами, при якому, як правило, не реєструвалися біологічні ефекти променевого ураження. Разом з цим, на них діяли жорсткі фактори, що спричинювали психоемоційний стрес (ПЕС), психічне перенапруження, неврози тощо [1]. Сьогодні остаточно не доведено, що радіаційний фактор низькими дозами не визначає характеру соматичних зрушень та метаболічної дезадаптації [2].

Тому основною метою роботи було вивчення в експерименті комбінованої дії психоемоційного стресу та тривалого іонізуючого опромінювання низькими дозами на деякі по-

казники метаболізму печінки і розробка основних шляхів фармакологічної корекції.

Проведені нами раніше дослідження показали, що тривале тотальне  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр на фоні ПЕС спричинює суттєві зміни активності реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину та їх послідовність, які за ступенем дезінтеграції значно переважають аналогічні показники, що розвиваються окремо при опроміненні чи ПЕС. Водночас було ґрунтовно доведено, що найбільш глибокої дезінтеграції зазнає метилування та АДФ-рибозилування, які є основою метаболічного гомеостазу.

З іншого боку, найголовнішим завданням є пошук та створення нових лікарських засобів (ЛЗ) для запобігання та коригування порушень. Таким вимогам, в першу чергу, відповідають ЛЗ, що створені на

основі природних метаболітів. Цей новий похідний оксіетилідендифосфонату германію з нікотинамідом (гермамід), що створений і вивчається на кафедрі загальної та клінічної фармакології, та S-аденозил-L-метіонін (адеметіонін), або гептрал, який відіграє важливу роль у цілій низці біохімічних реакцій як попередник субстратів. Дослідження показали, що вони є високоефективними мембранопротекторами, нормалізують метаболізм клітинних і субклітинних структур [3; 4].

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на 110 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г. Психоемоційний стрес моделювали методом 4-добової депривації сну [5]. Опромінення тварин проводили на телегамматерапевтичній установці «Агат» за

таких умов:  $R_a=107$  рад/хв; поле  $20 \times 20$  см; ВПД=75 см; COD=1,0 Гр; разова доза — 0,1 Гр; час експозиції — 6 с; інтервал між опроміненнями — 72 год; кількість повторів — 10. Тварин розподілили на 6 груп: 1 — контроль; 2 —  $\gamma$ -опромінення; 3 —  $\gamma$ -опромінення на фоні ПЕС; 4 —  $\gamma$ -опромінення+ПЕС+гептрал; 5 —  $\gamma$ -опромінення+ПЕС+гермамід; 6 —  $\gamma$ -опромінення+ПЕС+гептрал+гермамід. Гептрал дозою 5 мг/кг, а гермамід — 34 мг/кг вводили внутрішньочеревинно на 14-й день  $\gamma$ -опромінення за 12 год до початку депривації сну протягом 7 діб. Тварин декапітували під етамінал-натрієвим наркозом. Об'єктом дослідження була печінка, з клітин якої виділяли ядра [6]. Шляхом обробки очищеного хроматину отримували лабільно та міцно зв'язані з ДНК негістонові білки (лНГБ і мНГБ відповідно) [7]. Гістони екстрагували 0,25 N  $H_2SO_4$ , осаджували ацетоном, промивали етанолом і ліофілізували. Індивідуальні гістони вилучали фракціонуванням сумарних гістонів методом гельфільтрації на біогелі P-60 та сефадексі G-100 [8]. Сумарні гістонові білки отримували із очищеного хро-

матину [9]. Для дослідження реакції модифікації білків хроматину *in vivo* експериментальним тваринам внутрішньочеревинно (із розрахунку на 100 г маси) вводили при дослідженні реакції: метилування — 8,0 МБк  $^3H$ -метилметіоніну за 1,5 год до декапітації; АДФ-рибозилування — 8,0 МБк  $^3H$ -рибози за 2 год. Забарвлені гелі сканували на СФ Specord UV-VIS. Концентрацію білка визначали за методом G. Desoye [10], а підрахунок радіоактивності у зонах гелю проводили за методом V. J. Aloyo [11]. Визначення вмісту циклічних нуклеотидів у печінці проводили за допомогою наборів фірми "Amersham", концентрацію виражали у пікомолях на 1,0 г тканини. Обробку результатів проводили з використанням загальноприйнятої програми "Primer Biostatistics" (США).

#### Результати дослідження та їх обговорювання

Метилування є одним із провідних механізмів синтезу білків взагалі, а ядерних — в першу чергу. Тотальне  $\gamma$ -опромінення на 75 % підвищувало активність метилування сумарних гістонів (СГ), а на фоні

ПЕС — на 110 %. Аналогічна тенденція спостерігалась з індивідуальними гістонами Н1, Н2А та Н2В. Опромінення практично не змінювало активність метилування гістону Н3 ( $5816 \pm 048$  і  $5532 \pm 101$ ), а Н4 пригнічувало на 32 %. Психоемоційний стрес на фоні опромінення на 38 % суттєво підвищував активність метилування Н3, активність Н4 залишалася на тому ж рівні ( $2456 \pm 16$  і  $2582 \pm 13$ ). Опромінення пригнічувало активність метилування як лНГБ, так і мНГБ відповідно на 67 і 110 % порівняно з контролем (табл. 1).

Курсове введення гептралу суттєво запобігало надмірній активації реакції метилування СГ ( $4240 \pm 28$  при  $3453 \pm 20$  у контролі та  $7254 \pm 23$  при ПЕС і опроміненні), а також усіх індивідуальних гістонів — Н1, Н2А, Н2В, Н3, Н4 (відповідно їх активність становила: 103, 85, 119, 87, 86 % і відносно контролю зміни були невірогідними). Що ж до впливу гептралу на процеси метилування негістонових білків, слід зазначити, що активність лНГБ майже досягала контрольних показників, а мНГБ — практично не відрізнялася від контролю. Ефективність гептралу

Таблиця 1

Активність реакцій метилування гістонів і негістонових білків хроматину ядер клітин печінки за умов психоемоційного стресу в радіаційно уражених щурів та фармакологічної корекції,  $M \pm m$ ;  $n=10$ ; імп/хв на 1 мг білка

Умови експерименту	Сумарні гістони	Індивідуальні гістони					Негістонові білки	
		Н1	Н2А	Н2В	Н3	Н4	лНГБ	мНГБ
Контроль	3453±20	628±18	29880±38	1695±56	5816±048	3612±19	6425±37	4250±20
14-та доба $\gamma$ -опромінення	6046±15*	809±14*	3063±56	2621±38*	5532±101	2456±16*	3636±30*	6849±13*
14-та доба $\gamma$ -опромінення на фоні ПЕС	7254±23*	1132±21*	4848±35*	2839±53*	8061±042*	2582±13*	10762±43**	8929±27*
14-та доба $\gamma$ -опромінення на фоні ПЕС+гептрал	4240±28**	647±30#	2536±32#	2022±59#	5066±027#	3103±14#	8263±50**	4777±18#
14-та доба $\gamma$ -опромінення на фоні ПЕС+гермамід	4838±27**	737±27**	2184±34**	2175±61**	6717±050	3009±17#	8430±40**	5423±21#
14-та доба $\gamma$ -опромінення на фоні ПЕС+гептрал+гермамід	3809±17#	619±29#	2890±27#	1720±41#	4949±038#	3978±20#	5660±31#	4595±28#

Примітка. У табл. 1 і 2: \* —  $P < 0,05$  порівняно з контролем; # —  $P < 0,05$  порівняно з  $\gamma$ -опроміненням на фоні ПЕС.

Активність реакцій АДФ-рибозилування гістонів і негістонових білків хроматину ядер клітин печінки за умов психоемоційного стресу в радіаційно уражених щурів та фармакологічної корекції,  $M \pm m$ ;  $n=10$ ; (імп/хв на 1 мг білка)

Умови експерименту	Сумарні гістони	Індивідуальні гістони					Негістонові білки	
		H1	H2A	H2B	H3	H4	ЛНГБ	МНГБ
Контроль	3085±178	2624±120	1340±60	931±35	1613±79	561±28	5401±300	6430±125
14-та доба γ-опромінення	1573±135*	4833±117*	2309±53*	1509±44*	2385±75*	811±45*	7248±135*	8835±115*
14-та доба γ-опромінення на фоні ПЕС	1366±120*	5788±089*	2819±36*	1918±29*	2844±62*	937±77*	8452±265*	10970±132*
14-та доба γ-опромінення на фоні ПЕС+гептрал	2018±141**	4256±110*	2219±56*	1435±30*	1424±65 #	597±45 #	6422±251**	8500±135**
14-та доба γ-опромінення на фоні ПЕС + гермамід	2264±139**	3157±123**	1748±46**	1135±34#	1132±58**	393±20**	4780±220#	7517±116#
14-та доба γ-опро- мінення на фоні ПЕС+ +гептрал+гермамід	2641±161#	2656±145#	1451±72#	875±80#	1348±65#	420±18#	4839±210#	5774±082#

Таблиця 3

Вміст циклічних нуклеотидів у печінці за умов психоемоційного стресу в радіаційно уражених щурів і фармакологічної корекції,  $M \pm m$ ,  $n=10$  (пмоль/г тканини)

Умови експерименту	Вміст циклічних нуклеотидів			
	цАМФ		цГМФ	
	абс.	%	абс.	%
Контроль	180,6±6,2	100,0	75,6±2,5	100,0
14-та доба γ-опромінення	114,1±5,1	63,2*	91,0±1,6	120,4*
14-та доба γ-опромінення на фоні ПЕС	41,9±1,1	23,3*	40,5±0,8	53,6*
14-та доба γ-опромінення на фоні ПЕС+гептрал	95,4±3,2	52,8* 227,7#	57,0±1,5	75,4* 140,7#
14-та доба γ-опромінення на фоні ПЕС+гермамід	122,2±6,1	67,7 291,6#	84,6±1,3	111,9* 208,9#
14-та доба γ-опромінення на фоні ПЕС+гептрал+гермамід	158,4±5,5	87,8* 370,8#	102,6±2,7	135,7* 253,3#

Примітка. \* — порівняно з контролем; # — порівняно з ПЕС на фоні γ-опромінення.

пояснюється тим, що він бере активну участь у трансметилуванні або як донор, або як індуктор ферментів [12]. При різних формах ушкодження печінки, особливо при окиснювальній деструкції та утворенні вільних радикалів, гептрал повертає глутатіону відновну активність і тим самим стимулює протекторну роль адеметіонінсинтетази [13]. По відношенню до гептралу гермамід виявляє активність, аналогічну за спрямованістю та силою дії. Як відомо, оксїетилідендифосфонат германію з нікотинамідом стабілізує клітинні та субклітинні структу-

ри. Сам нікотинамід (НА) пригнічує пероксидацію ліпідів, створює радіопротекторний ефект, претендує на роль ліганда бензодіазепінових рецепторів [14]. Тому комбіноване застосування гептралу та гермамиду було дуже ефективним при запобіганні патології. Практично всі показники активності реакції метилування СГ, індивідуальних гістонів і негістонових білків не відрізнялися від контрольних показників.

Друга важлива ланка, яку ми вивчали, — це активність реакцій АДФ-рибозилування, при якому залишки D-рибози

входять до складу ядерних білків — нуклеопротейдів, нуклеїнових кислот тощо. γ-Опромінення вірогідно зменшувало активність АДФ-рибозилування СГ, збільшувало активність АДФ-рибозилування індивідуальних гістонів і НГБ (табл. 2). Опромінення на фоні ПЕС ще більше поглиблювало ці зміни — у середньому у 1,5–2 рази і більше. Застосування гептралу і гермамиду вірогідно зменшувало негативний вплив опромінення та стресу. При цьому активність гермамиду перевищувала активність гептралу в інтервалі від 20 до 70 %.

Сумісне введення двох ЛЗ виявляло виражену потенціюючу дію. Активність реакцій АДФ-рибозилування як СГ, індивідуальних гістонів, так і НГБ практично не відрізнялася від контрольних величин. Це свідчить про збереження активності матричної ДНК печінки.

Підтвердженням того, що зазначені ЛЗ нормалізують метаболічні процеси взагалі є збереження вмісту циклічних нуклеотидів при опроміненні, ПЕС та їх комбінації (табл. 3). Циклічні нуклеотиди через модуляцію активності фосфорилаз й аденілатциклази регулюють синтез адреналіну, який відіграє важливу роль в адаптації організму при опроміненні та ПЕС.

### Висновок

Таким чином, було доведено, що  $\gamma$ -опромінення та ПЕС суттєво впливають на метаболічні процеси в печінці, які полягають у дискоординації активності реакцій метилювання та АДФ-рибозилування, зменшенні вмісту циклічних нуклеотидів. Профілактичне курсове введення гептралу та гермаміду значно послаблювало негативну дію  $\gamma$ -опромінення та психоемоційного стресу, а їх сумісне введення практично дозволяло утримувати досліджувані показники метаболізму печінки на рівні контрольних.

тично дозволяло утримувати досліджувані показники метаболізму печінки на рівні контрольних. Отримані результати обумовлюють доцільність подальшого вивчення механізмів фармакологічної дії гептралу та гермаміду.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Мороз Б. Б., Десневой Ю. Б. Роль емоціонального стресса в розвитку порушень у ликвидаторов аварии на Чернобыльской атомной станции, облученных в диапазоне малых доз // Радиационная биология. — 1999. — Т. 39. — № 1. — С. 97-105.
2. Коломийцева И. К., Васильев А. В. Радиационные нарушения метаболизма липидов мембранных образований клетки // Радиационная биология. — М.: Атомиздат, 1975. — С. 149-164.
3. Кресюн В. И., Волощенко В. А. Гепатотропные эффекты нового класса БАВ — оксиэтилендифосфоната германия // Тези наук. конф. «Школа акад. О. І. Черкеса: ідеї, розвиток, перспективи». — К., 1994. — С. 57.
4. Кресюн В. В., Напхашюк В. К. Використання гептралу для корекції метаболічних зрушень за умов стресіндукованого ураження печінки щурів // Матер. II Нац. з'їзду фармакологів України «Фармакологія 2001 — крок у майбутнє». — Дніпропетровськ, 2001. — С. 136.
5. Etude de la privation selective de la phase paradoxale de sommeil chez le chat / D. Jouvet, P. Vimont, F. Delozme, M. Jouvet // C. L. Soc. Biol. — 1964. — Vol. 158, N 4. — P. 756-760.
6. Modification of ribonucleic acid synthesis in nuclei isolated from normal and regenerating liver: some effect

of salt and specific divalent cations / P. O. Pogo, V. C. Littan, V. G. Allfrey, A. E. Mirky // Proc. Nat. Acad. Sci. — 1967. — Vol. 53, N 3. — P. 743-750.

7. Уманский С. Р., Ковалев Ю. И., Лукер Е. Г. Взаимодействие негистоновых белков С-хроматина с гомологичной и гетерологичной ДНК // Молекулярная биология. — 1975. — Т. 9, № 5. — С. 683-690.

8. Panhyim S., Chalkley R. High resolution acrilamide gel electrophoresis of histones // Arch. Biochem. And Biophys. — 1969. — Vol. 130, N 1-2. — P. 337-346.

9. Бердников В. А., Горель Ф. Л. Изучение количественных соотношений между гистоновыми фракциями // Молекулярная биология. — 1975. — Т. 9, № 5. — С. 699-705.

10. Desoye G., Porshke D. Polynucleotide — oligopeptide — interactions // Stud. Biophys. — 1980. — Vol. 81, N 2-3. — P. 107-108.

11. Aloyo V. J. Scintillation counting of 3H- and 14C-containing gel slices: a one-step method // Anal. Biochem. — 1979. — Vol. 99, N 1. — P. 161-164.

12. Stramentinoli G. Pharmacologic aspects of S-Adenosyl-methionine: pharmacokinetics and pharmacodynamics // American Journal of Medicine. — 1987. — 83. — P. 35-42.

13. Inhibition of glutathione synthesis in the liver leads to S-adenosyl-L-methionine synthetase reduction / F. Corrales, P. Ochoa, C. Rivas et al. // Hepatology. — 1991. — N 14. — P. 528-533.

14. Динаміка біосинтезу нікотинамідних коферментів з нікотинамідом та нікотинової кислоти в тканинах щурів / М. Я. Федик, М. М. Великий, М. Л. Забабуріна, О. Д. Оліярник // Укр. біохім. журн. — 1996. — Т. 68, № 2. — С. 29-33.

UDC 616.45-001.1/3:616.36

В. В. Кресюн

### МЕТАБОЛІЧНІ ЗРУШЕННЯ ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ $\gamma$ -ОПРОМІНЕННЯ І ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ

Виявлено, що  $\gamma$ -опромінення та психоемоційний стрес суттєво впливають на метаболічні процеси у печінці, що проявляється дискоординацією активності реакцій метилювання та АДФ-рибозилування, зменшенням вмісту циклічних нуклеотидів. Курсове введення гептралу і гермаміду значно знижувало негативну дію цих факторів. Поєднане застосування цих препаратів практично утримувало досліджувані показники метаболізму печінки на рівні контрольних значень.

**Ключові слова:** стрес,  $\gamma$ -опромінення, метилювання, АДФ-рибозилування, фармакологічна корекція.

UDC 616.45-001.1/3:616.36

V. V. Kresyun

### METABOLIC INFRINGEMENTS AND THEIR PHARMACOLOGICAL CORRECTION AT THE COMBINED ACTION OF $\gamma$ -IRRADIATION AND PSYCHOEMOTIONAL STRESS

It has been established, that  $\gamma$ -irradiation and psychoemotional stress essentially influence metabolic processes in the liver that is shown by discoordination activity of methylation and ADP-ribosylation reactions, reduction of the cyclical nucleotides contents. Heptral and germamide course introduction considerably reduced negative action of these factors. Combinative application of the given preparations practically kept investigated parameters of liver metabolism at a level of control values.

**Key words:** stress,  $\gamma$ -irradiation, methylation, ADP-ribosylation, pharmacological correction.

### До уваги читачів!

Редколегія журналу «Досягнення біології та медицини» повідомляє, що у випуску журналу № 2 за 2003 р. було опубліковано статтю В. С. Білокриницького «Влияние СВЧ-поля на головной мозг в условиях эксперимента», яка відтворює статтю цього

ж автором «Изучение влияния больших доз сверхвысокочастотного электромагнитного поля на нервную систему животных при условно-рефлекторной деятельности», що опублікована в «Журнале высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова» у № 3, Т. XXI за 1971 р.