

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При анализе заболеваемости с временной утратой трудоспособности у операторов и почтальонов выявлены высокие показатели числа дней нетрудоспособности с тенденцией нарастания у более стажированных работниц. В группах женщин со стажем работы до 10 лет эти показатели соответствуют градации «выше среднего», в группах со стажем работы более 10 лет — градации «высокие».

2. Существует профессиональная обусловленность ряда хронических заболеваний, по данным углубленного медицинского осмотра. В группе операторов наиболее высокая степень профессиональной обусловленности отмечалась у болезней органов зрения (очень высокая), болезней системы кровообращения (высокая). В группе почтальонов наибольшая степень профессиональной обусловленности отмечалась у болезней костно-мышечной системы (высокая).

3. У женщин работниц почтовой связи выявлена высокая степень реализации профессионального риска с увеличением стажа работы: у операторов — болезней органов зрения в 1,7 раза, сердечно-сосудистых заболеваний в 1,6 раза; у почтальонов — болезней костно-мышечной системы в 1,9 раза, болезней системы кровообращения в 1,3 раза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Измеров И. Ф., Денисов Э. И., Молодкина Н. И., Родионова Г. К. // Медицина труда и промышленная экология. — 2001. — № 12. — С. 1—7.
2. Малькова И. Ю., Меркулова Л. И., Ушакова И. Н. // Гигиена окружающей и промышленной среды. — 2002. — № 4. — С. 71—73.
3. Никитина В. И., Захарченко М. Г., Вишнякова Е. А. // Медицина труда и промышленная экология. — 2002. — № 9. — С. 27—31.
4. Родионова Г. К., Жаворонок Л. Г. Профессиональный риск здоровья работников: Руководство под ред. Н. Ф. Измерова, Э. И. Денисова — М.: Травант, 2003. — С. 374—387.
5. Руководство Р 2.2.2006 — 05. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса.
6. Сан ПИН 2.2.2/ 2.4.1340-03 Гигиенические требования к персональным электронно-вычислительным машинам и организации работы.
7. Файфутдинова Л. М. // Медицина труда и промышленная экология. — 2004. — № 34. — С. 37—54.

## Контактная информация

**Гаврикова Светлана Юрьевна** — аспирант кафедры гигиены и экологии ВГМУ, врач функциональной диагностики МУЗ «Городская клиническая больница № 1 им. С. З. Фишера» г. Волжского, e-mail: svetlanagavrikova@yandex.ru

УДК 612.111.7:54-45:616-005.4

## МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА АКТИВНОСТЬ НАТРИЙ/ВОДОРОДНОГО ОБМЕННИКА

**Н. А. Гурова, А. А. Спасов, А. С. Питерсен**

*Кафедра фармакологии ВолгГМУ*

Описан метод изучения активности  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника на тромбоцитах кролика. Показано, что амилорид дозозависимо ингибирует  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обмен. Рассчитана величина  $\text{IC}_{50}$ . Данный метод может быть использован для скрининга новых противоишемических соединений.

*Ключевые слова:*  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник, тромбоциты, амилорид.

## METHOD OF STUDYING THE EFFECT OF NEW COMPOUNDS ON THE ACTIVITY OF THE SODIUM /HYDROGEN EXCHANGER

**N. A. Gurova, A. A. Spasov, A. S. Piteresen**

A method of investigating  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange activity on rabbit platelets was described. It was shown that amiloride inhibits the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger, and  $\text{IC}_{50}$  was calculated. This method can be used for screening of new antiischemic compounds.

*Key words:* the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger, platelets, amiloride.

В основе генеза повреждения кардиомиоцитов целого ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы лежит закисление внутриклеточной среды и развитие «кальциевого парадокса» [4, 5]. Эти изменения, обусловленные различными этиологическими фактора-

ми, приобретают важное патогенетическое значение и нередко являются определяющими для прогноза заболевания. В связи с этим естественным является стремление оказать корректирующее влияние на нарушенный метаболизм кардиомиоцитов [1—3].

Известно, что pH внутриклеточной среды регулируется целым рядом ионных обменников, таких как  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник,  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -симпорт и другие [5]. В частности,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменники (NHE) составляют группу интегральных мембранных белков, экспрессируемых во всех тканях организма, которые осуществляют трансмембранный обмен ионов  $\text{Na}^+$  на ионы  $\text{H}^+$  [4—6]. В настоящее время девять различных типов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  белков-обменников были клонированы из тканей млекопитающих (NHE-1-NHE-9) [6, 7, 9]. Они различаются по аминокислотному составу, тканевой специфичности, механизмам внутриклеточной регуляции.

Одним из сарколеммных белков, вовлеченных в регулирование внутриклеточного pH в кардиомиоците, является NHE-1. Эта изоформа локализуется преимущественно в плазматической мембране миокарда, а также в тромбоцитах и эритроцитах [7, 9]. При физиологическом pH он имеет низкую активность. При возникновении внутриклеточного ацидоза во время ишемии происходит накопление внутриклеточных протонов, которые выводятся из клеток через сарколеммный NHE-1 в обмен на вход ионов  $\text{Na}^+$ . Возрастание внутриклеточного содержания ионов  $\text{Na}^+$ , в свою очередь, активирует  $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -реверсионный обмен через сарколемму, инициируя вход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в кардиомиоциты. Возникает « $\text{Ca}^{2+}$ -перегрузка» [4, 5, 6, 7, 9]. Реперфузия усугубляет повреждение, возникшее во время ишемии. Во время реперфузии концентрация внеклеточных протонов быстро снижается, формируется большой градиент вне/внутриклеточных протонов, что ведет к росту уровня кальция и реперфузионным аритмиям, контрактурам кардиомиоцитов, некрозу.

Уменьшение повреждающего действия чрезмерной активации NHE-1 обесценивает кардиопротекторное действие его ингибиторов. Первоначально это было подтверждено кардиопротекторными эффектами неселективного ингибитора  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обмена амилорида и его производными, а впоследствии с помощью новых гуанидиновых производных, таких как карипорид, сабиборид, KR-32511, KR-32570 и KR-33028 [4, 5, 7]. Результаты экспериментальных исследований этих соединений позволяют предположить, что их использование в клинике может быть новой стратегией защиты миокарда от повреждений, вызванных ишемией и реперфузией [5, 6].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Опробирование метода изучения влияния соединений на активность NHE-1 на тромбоцитах кролика.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Образцы крови забирали из краевой вены уха кролика в пробирку, содержащую 3,8 % цитрата натрия в соотношении 1:10. Для получения плазмы, богатой тромбоцитами (ПБогТ), кровь центрифугировали при 1000 оборотах в минуту в течение 12 минут. Для получения плазмы, бедной тромбоцитами (ПБедТ), остаток образца крови центрифугировали при 3000 оборотах в минуту в течение 20 минут.

В основу метода были положены подходы, предложенные Roskopf D., et al. (1991) [10] и Kusumoto K. (2002) [8], основанные на изменении светопропускания при изменении формы тромбоцита.

В контрольной серии экспериментов к 200 мкл ПБогТ для снижения внутриклеточного pH добавляли 600 мкл раствора пропионата натрия (в ммоль/л: Na пропионат 135, HEPES 20,  $\text{CaCl}_2$  1,  $\text{MgCl}_2$  1, глюкоза 10; pH 6,7;  $t = 37^\circ\text{C}$ ). При этом происходит активация NHE-1, увеличение притока натрия, связанное с выделением цитозольного  $\text{H}^+$ , ведущее к отеку (сферуляции) тромбоцита в результате аккумуляции воды в цитоплазме. При этом наблюдается облегчение светопропускания. Для контроля изменения светопропускания в условиях физиологических pH использовали ПБедТ.

Изменение формы тромбоцитов регистрировали по изменению уровня светопропускания с помощью лазерного агрегометра «БИОЛА-220 ЛА», Россия.

Для подтверждения правильности методического подхода нами был изучен амилорид (SIGMA), известный неселективный ингибитор NHE-1, в диапазоне концентраций  $10^{-7}$ — $10^{-5}$  моль/л. Препарат (10 мкл) добавляли в кювету с ПБогТ (200 мкл) за 3—5 минут до добавления раствора пропионата натрия, инкубировали при температуре  $37^\circ\text{C}$  и постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки (1000 оборотов в минуту).

Величина  $\text{IC}_{50}$  амилорида была рассчитана с помощью регрессионного анализа зависимости между  $\log$  концентрации и активностью обменника. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. (StatSoft, США) и Excel 2007 (MS Office XP, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной серии экспериментов при добавлении к 600 мкл ПБедТ изменение светопропускания наблюдалось в среднем на 30—40 % от исходного уровня калибровки. При добавлении 600 мкл буфера, содержащего натрия пропионат, подобные изменения достигали 60—70 %. При добавлении Na-пропионатного буфера к ПБогТ, предварительно инкубированной с амилоридом, происходило снижение уровня светопропускания по отношению к исследованиям только с буфером. Это свидетельствует о том, что амилорид ингибирует NHE и уменьшает вероятность сферуляции тромбоцитов.

В ходе проведенного исследования было показано дозозависимое угнетение активности NHE при использовании амилорида в диапазоне концентраций  $10^{-7}$ — $10^{-5}$  моль/л. Рассчитана величина  $\text{IC}_{50}$ , которая составила  $1,23 \cdot 10^{-6}$  моль/л. Регрессионное уравнение и величина парного коэффициента корреляции ( $R^2$ ) представлены на рис. Полученные данные сопоставимы с литературными данными (база данных EMBL-EBI, 2010).

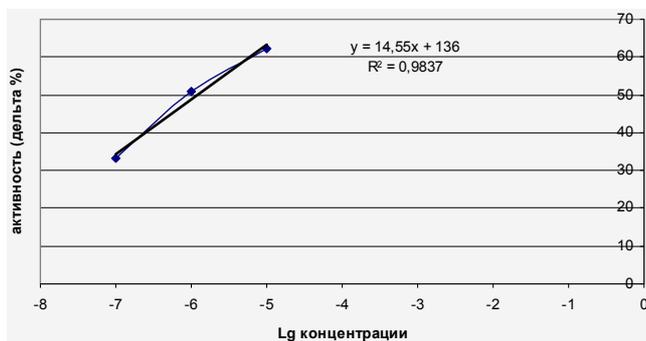


Рис. Расчет величины  $IC_{50}$  амилорида по влиянию на активность  $Na^+/H^+$ -обменника тромбоцитов кролика (моль/л)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При активации NHE-1 с помощью натрия пропionato происходит сферуляция тромбоцитов, что регистрируется по изменению светопропускания. Соединение амилорид ингибирует активность данного обменника и препятствует изменению формы тромбоцитов. Предложенная методика может быть использована для скрининга новых противоишемических соединений.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев А. П., Стрельцова Я. Я., Сенаторов Ю. Я. // Клиническая медицина. — 2004. — № 4. — С. 59—62.

2. Перфилова В. Н., Тюренков И. Н. // Вестник ВолгГМУ. — 2005. — Т. 1, № 13. — С. 30—33.

3. Перфилова В. Н., Тюренков И. Н. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2005. — № 5. — С. 68—71.

4. Писаренко О. И. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2004. — № 9 (90). — С. 1103—1110.

5. Писаренко О. И. // Кардиология. — 2005. — № 9. — С. 62—72.

6. Fliegel L. // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. — 2008. — № 44. — P. 228—237.

7. Kim J., et al. // European Journal of Pharmacology. — 2007. — № 567. — P. 131—138.

8. Kusumoto K., et al. // British Journal of Pharmacology. — 2002. — № 135. — P. 1995—2003.

9. Mackenzie E., Fliegel M., Fliegel L. // Can. J. Physiol. Pharmacol. — 2006. — № 8. — P. 1081—1091.

10. Roskopf D., et al. // Journal of Hypertension. — 1991. — Vol. 9. — P. 231—238.

## Контактная информация

Спасов Александр Алексеевич — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии, проректор ВолгГМУ по учебно-воспитательной работе с зарубежными студентами и международной деятельности, (8442) 94-24-23, 97-15-34, farm@vlpost.ru

УДК 615.21:547.466.3+616.831-005.4-092.9

## ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Е. В. Волотова, Д. В. Куркин, И. Н. Тюренков, А. А. Литвинов

Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ

При острой ишемии головного мозга у крыс, вызванной двухсторонней окклюзией общих сонных артерий, новое производное гамма-аминомасляной кислоты — соединение РГПУ-189 — оказывало выраженное церебропротективное действие, сопоставимое с кавинтоном и превосходящее фенибут, пирacetам, аминалон.

**Ключевые слова:** ишемия головного мозга, производные гамма-аминомасляной кислоты, церебропротекция, фенибут, кавинтон, пирacetам, аминалон.

## CEREBROPROTECTIVE EFFECTS OF DERIVATIVES OF GABA IN ACUTE ISCHEMIA OF RATS BRAIN

E. V. Volotova, D. V. Kurkin, I. N. Tyurenkov, A. A. Litvinov

A new derivative of GABA, RGPU-189 compound, has a marked cerebroprotective effect comparable to cavinton and superior to phenibut, piracetam, aminalol in acute cerebral ischemia induced in rats by 2-sided occlusion of common carotid arteries.

**Key words:** cerebral ischemia, GABA derivatives, cerebroprotective, phenibut, cavinton, piracetam, aminalol.

Среди причин преждевременной смертности ведущие позиции занимают цереброваскулярные расстрой-

ства, среди которых доминирующее положение принадлежит ишемическим поражениям головного мозга [2, 3].