

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
СОВЕТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ СОГМА
ИНСТИТУТ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВЛАДИКАВКАЗСКОГО
НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



МОЛОДЫЕ УЧЕНЫЕ – МЕДИЦИНЕ

**МАТЕРИАЛЫ XV НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

20-21 мая 2016 года

Владикавказ

2016

ББК 5
М 75

М 75 **Молодые ученые – медицине:** Материалы XV научной конференции молодых ученых и специалистов с международным участием : [Текст] – Владикавказ: ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России : ИПЦ ИП Цопановой А.Ю., 2016. 321 с.

ISBN 978-5-4352-0031-7

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Д.м.н. О. В. Р е м и з о в
Доцент А. Е. Г у р и н а

Ответственный редактор:

Д. В. К а б а л о е в а

Исполнительный редактор:

М. Т. К и с и е в а

В сборник материалов XV научной конференции молодых ученых и специалистов СОГМА с международным участием «Молодые ученые – медицине» вошли работы молодых исследователей разных регионов России и ближнего зарубежья: Северо-Осетинская государственная медицинская академия, Россия, г. Владикавказ; Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, г. Владикавказ; ФГБУ Институт биомедицинских исследований ВНИЦ РАН и Правительства РСО-Алания, Россия, г. Владикавказ; Первый московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, Россия, г. Москва; Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, г. Волгоград; Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, Россия, г. Саратов; Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Россия, г. Пятигорск; Башкирский государственный медицинский университет, Россия, г. Уфа; Курский государственный медицинский университет, Россия, г. Курск; Кабардино-Балкарский государственный университет, медицинский факультет, Россия, г. Нальчик; Запорожский государственный медицинский университет, Украина, г. Запорожье; Сумской государственный университет, Украина, г. Сумы; Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина; Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Россия, г. Санкт-Петербург; Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Республика Казахстан, г. Алматы; Белорусский государственный медицинский университет, Беларусь, г. Минск; Казанская государственная медицинская академия, Россия, г. Казань; Оренбургская государственная медицинская академия, Россия, г. Оренбург; Гомельский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, г. Гомель; Буковинский государственный медицинский университет, Украина, г. Черновцы; Северный государственный медицинский университет, Россия, г. Архангельск; Южно-Уральский государственный медицинский университет, Россия, г. Челябинск и др.

Контактный адрес:

РСО-Алания, 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40, СМУ СОГМА
тел. (8672) 56-33-01
E-mail: smu.nosma@mail.ru

ББК 5

ISBN 978-5-4352-0031-7

© ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, 2016

УДК 616.89-008.441.13-099-036.2-085.272]:615.015.4

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НЕЙРОАПОПТОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АЛКОГОЛИЗМЕ

Соколик Е.П.

*Запорожский государственный медицинский университет, Украина, г. Запорожье,
Кафедра фармакологии и медицинской рецептуры (Заведующий кафедрой, научный
руководитель – д.б.н., проф. Беленичев И.Ф.)*

E-mail: sokoliker@gmail.com

Поиск новых путей фармакокоррекции морфофункциональных изменений нейроглиальных структур головного мозга и регуляция нейроапоптоза при моделировании 30-дневной хронической алкогольной интоксикации у крыс определил эффективные нейропептидные церебропротекторы – церебролизин, кортексин и цереброкурин. Результаты эксперимента показали, что наиболее терапевтически активным является препарат цереброкурин, соответственно он рекомендуется для включения в традиционную схему лечения.

PHARMACOLOGICAL REGULATION OF MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS NEURON APOPTOSIS DURING CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

Sokolik E.P.

Search of new ways of pharmacocorrection of morphofunctional changes neuroglial structures of the brain and restoration of interneural interactions and apoptosis at modelling of 30-day chronic alcoholic intoxication at rats has defined effective neuropeptidecerebroprotectors – cerebrolisin, cortexin and cerebrocurin. Also results of experiment have shown that most active preparation is cerebrocurin, so it is recommended for inclusion in the traditional scheme of treatment.

Актуальность. Алкоголизм – чрезвычайно важная социальная и медицинская проблема. Интоксикация алкоголем, длящаяся годами, вызывает стойкие морфологические изменения в различных органах, особенно чувствительны к воздействию этилового спирта нейроны [1-2]. До настоящего времени не совсем понятны молекулярные механизмы гибели нейронов под действием этанола и его метаболитов. Именно изучение молекулярных

механизмов, запускающих процессы нейроапоптоза или некроза, позволят подойти более обоснованно к назначению нейропротективной терапии в условиях алкогольной болезни. Учитывая результаты, полученные нами и другими исследователями в области алкогольной нейродеструкции, целесообразным считаем применение нейротрофических церебропротекторов (цереброкурин, кортексин, церебролизин), которые оказывают терапевтическое действие при различных патологиях ЦНС [3-4].

Цель исследования. На основании экспериментальных исследований молекулярно-морфологических изменений головного мозга крыс, подвергнутых алкоголизации, обосновать применение и провести оценку нейропротективного действия нейропептидных препаратов – церебролизина, цереброкурина и кортексина .

Материалы и методы. В опытах использовали 50 белых беспородных крыс-самцов с массой тела 180-220 грамм и возрастом 4,5 месяцев, которые содержались в виварии при свободном доступе к пище (стандартный гранулированный корм) и воды, при естественной смене дня и ночи [5-6].

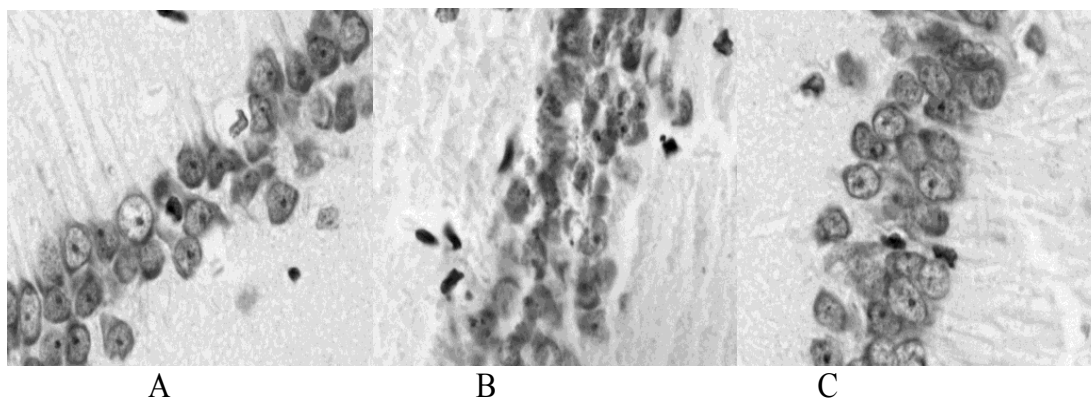
Хроническую алкогольную интоксикацию вызывали ежедневным внутрижелудочным введением первые 10 дней – 15% раствора этанола в дозе 4 г/кг, следующие 10 дней – 15% раствора этанола в дозе 6 г/кг и последующие 10 дней крысам вводили 25% раствор этанола в дозе 4 г/кг. Одновременно проводили экспериментальную терапию изучаемыми препаратами в течение всего этапа алкоголизации (30 дней). Из эксперимента животных выводили с помощью декапитации под этаминал-натриевым наркозом. Все крысы были разделены на 5 групп: 1-я группа получала в течение 30 дней этанол и цереброкурин в дозе 0,06 мг/кг; 2-я группа получала в течение 30 дней этанол и церебролизин в дозе 4 мг/кг; 3-я группа получала в течение 30 дней этанол и кортексин в дозе 0,5 мг/кг; 4-я группа получала в течение 30 дней этанол (контроль); 5-я группа – интакт (вместо этанола – физиологический раствор) [7].

Для проведения морфологических исследований ткань головного мозга экспериментальных животных помещали на сутки в фиксатор Буэна и после стандартной гистологической проводки ткань заключали в парафин. Для изучения морфологии нейронов на ротационном микротоме изготавливали срезы СА1-зоны гиппокампа толщиной 5 микрон. Срезы гиппокампа депарафинировали и окрашивали для определения нуклеиновых кислот галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Морфометрические исследования проводили на микроскопе Axioskop (Zeiss, Германия). Изображение нейронов в области зоны СА1 гиппокампа, получаемые на микроскопе, с помощью высокочувствительной видеокамеры СОНУ-4922 (СОСНУ Inc., США) вводили в компьютерную программно-аппаратную систему цифрового анализа изображения VIDAS. Анализ изображений проводили в полуавтоматическом режиме.

Для определения содержания bcl-2 белков проводилось выделение нейронов коры мозга в два этапа. На первом этапе мозговая ткань дезинтегрировалась с целью получения клеточной суспензии, на втором – осуществлялось дифференциальное ультрацентрифугирование. Методом иммуноблотинга исследовали концентрацию белков bcl-2. Для приготовления белковых проб клетки собирали, отделяя их от субстрата смесью растворов трипсина и версена (1:1), трижды промывали в 10 мл холодного PBS, центрифугируя при 200 g в течение 5 мин. К клеточному осадку добавляли 100 мкл лизирующего буфера, состоящего из 20 mM Трис-НСl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.5 % Тритона X-100, 2 mM EDTA и 1 mM PMSF (производство Sigma, США). Экстракты центрифугировали при 8000 g в течение 10 мин, отбирали супернатант и измеряли в нем концентрацию общего белка по методу Бредфорд (Bradford, 1976). Электрофоретическое разделение белков проводили по методу Лаэммли (Laemmli, 1970). После перенесения белков с геля на нитроцеллюлозную мембрану ее инкубировали в течение 1 ч с моноклональными антителами к bcl-2, и с вторичными антителами против иммуноглобулина (IgG) мыши, меченными пероксидазой хрена (Sigma, США). Сравнение групп проводили при помощи критерия t-Стьюдента. Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной

программы «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc., № AXX R712D833214SAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003».

Результаты и их обсуждение. Моделирование хронической алкогольной интоксикации приводило к стойким нарушениям гистоструктуры CA-1 зоны гиппокампа и развитию апоптоза.(рис.1).



- А – CA1 зона гиппокампа у животных группы интакта;
 В – CA1 зона гиппокампа у животных контрольной группы;
 С – CA1 зона гиппокампа у животных группы цереброкурина;

Рисунок 1 Картина нейродегенерации после 30-дневной алкогольной интоксикации (применялась окраска галоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону, увеличение – $\times 40$)

Данные изменения выражаются в достоверном снижении плотности нейронов на 30 сутки алкогольной интоксикации до $892,2 \pm 147,82$ нейрон/ мм^2 по сравнению с интактными животными, у которых данный показатель составлял $1389,8 \pm 275,65$ нейронов/ мм^2 . Экспериментальная терапия животных введением церебролизина, кортексина и цереброкурина демонстрировала эффект нейропротективного действия увеличением плотности нейронов на 23,28%, 34,43% и 44,87% соответственно, по отношению к контрольной группе животных (табл.1).

Таблица 1

Влияние церебролизина, кортексина и цереброкурина на плотность нейронов, площади тел нейронов, содержание РНК и экспрессию белка Bcl-2 в зоне CA1- гиппокампа крыс с хронической алкогольной интоксикацией.

Исследуемые показатели	Плотность нейронов (нейрон/ мм^2)	Площадь нейронов (мкм^2)	Содержание РНК ($E_{\text{оп}}$)	Оптическое содержание белка Bcl-2, усл. ед.	Доля апоптотических клеток, %
Интакт N=10	$1389,8 \pm 275,65$	$155,8 \pm 37,35$	$14,1 \pm 2,85$	6,02	$4,97 \pm 0,82$
Контроль N=10	$892,2 \pm 147,82$	$106,8 \pm 23,72$	$9,8 \pm 1,78$	1,06	$15,2 \pm 3,25$
Церебролизин N=10	$1099,9 \pm 251,02^*$	$119,2 \pm 21,10^*$	$12,05 \pm 2,37^*$	$4,35^*$	$10,98 \pm 2,15^*$
Кортексин N=10	$1199,4 \pm 260,61^*$	$137,5 \pm 27,6^*$	$12,9 \pm 2,46^*$	$4,81^*$	$9,82 \pm 2,30^*$
Цереброкурин N=10	$1292,5 \pm 287,51^*$	$150,1 \pm 32,04^*$	$13,8 \pm 3,11^*$	$5,94^*$	$6,04 \pm 1,11^*$

*- $p < 0,05$ относительно контроля;

Также нейропептидные препараты (церебролизин, кортексин и церебролизин) увеличивали площадь нейронов в зоне СА1-гиппокампа крыс на 11,61%, 28,75% и 40,54% соответственно по отношению к контролю и содержание РНК на 22,96%, 31,63% и 40,82% соответственно по отношению к контролю. Нейропептидные препараты уменьшали долю апоптотических клеток на 27,76% – церебролизин, на 35,39% – кортексин и на 60,26% – цереброкуруин по отношению к группе контроля.

Отмечено повышение экспрессии белка Bcl-2 в группах животных, получавших нейропротективную терапию и снижение экспрессии белка Bcl-2 в контрольной группе, получавшей только этанол.

Выводы:

1. При формировании хронической алкогольной интоксикации у крыс в течение 30 дней в группе контроля отмечено уменьшение плотности, площади и содержания РНК в нейронах СА-1 зоны гиппокампа головного мозга, а также увеличение плотности и доли апоптотически измененных клеток, снижение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2.

2. Проведенная одновременно с алкоголизацией 30-дневная терапия нейропептидными церебропротекторами (церебролизин, кортексин и цереброкуруин) оказала положительное влияние на площадь, плотность и содержание РНК нейронов, а также повысила экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2.

3. Определен наиболее эффективный препарат – цереброкуруин, который значительно превосходил вышеуказанные препараты по всем изучаемым показателям и рекомендуется для включения в традиционную схему лечения алкоголизма.

Литература

1. Беленичев И.Ф., Соколик Е.П. Коррекция энергетического метаболизма нейропептидами в условиях хронической алкогольной интоксикации // Патология. 2010. Том 7, №2. С.50-53.

2. Беленичев И.Ф., Соколик Е.П. Экспериментальная фармакокоррекция нарушений поведения нейропептидными ноотропами в условиях 30-дневной алкоголизации // Фармакология и лекарственная токсикология. 2010. №1-2. С.11-16.

3. Кожем'якін Ю.М. Науково-практичні рекомендації по утриманню лабораторних тварин і роботі з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдинова. Київ, 2002.

4. Хабриев Р.У., Рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. М., 2005.

5. Holtzman D. M., Deshmukh M. Caspases: a treatment target for neurodegenerative disease // Nature Medicine. 1997. V. 3. P. 954-955.

6. Kim T-W, Warren H. P, Jung Y-K. Alternative cleavage of Alzheimer-associated Presenilins during apoptosis by a caspase – 3 family protease // Science. 1997. V. 277. P. 373-376.

7. Kroemer G. The proto-oncogene Bcl-2 and its role in regulating apoptosis // Nature Medicine. 1997. V. 3. P. 614-620.

8. Martinou J. K-, Dubois-Dauphin V., Staple J. K. Overexpression of bcl-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia // Neuron. 1994. V. 13. P. 1017-1030.

9. McCarthy N. J., Whyte M. K., Gilbert C. S. Inhibition of ced-3/ICE related proteases does not prevent cell death induced by oncogenes, DNA damage or the Bcl-2 Homologue Bak // J. Cell. 1997. V. 36. P. 215-227.

Плахтюкова П.С., Дмитриенко А.В., Дементьева Д.М., Погосова Х.Р., Бобровский И.Н. О ПРИЧИНАХ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННЫХ АНОМАЛИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (НА ПРИМЕРЕ АНАЛИЗА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ВНУТРИУТРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ).....	207
Погосова Х.Р., Плахтюкова П.С., Дементьева Д.М., Дмитриенко А.В., Бобровский И.Н. ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ УТОЧНЕНИЯ ПЕРЕЧНЯ ЭКОЛОГО-ЗАВИСИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СИСТЕМЕ ОЦЕНКИ РИСКА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ (НА ПРИМЕРЕ ВКЛЮЧЕНИЯ НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ И СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ – ВРОЖДЕННЫХ АНОМАЛИЙ РАЗВИТИЯ У ЛИЦ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРО-КАВКАЗСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА).....	208
Прислегина Д.А. КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРЫМСКОЙ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ У ДЕТЕЙ.....	211
Пушаева М.О. ХРОНИЧЕСКИЙ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ РИНОСИНСИТИТ С ПРИМЕНЕНИЕМ АМОКСИЦИЛЛИНА/КЛАВУАНАТ И ТРИМЕТОПРИМА-СУЛЬФАМЕТОКСАЗОЛА (ТМП-СМЗ) С ПЛАЦЕБО.....	214
Пшукова Е.М., Будник А.Ф., Мусукаева А.Б. ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ НОВОРОЖДЕННОГО РЕБЕНКА.....	216
Ремизова Д.М., Сенченко Д.В., Бобровский И.Н., Саримсаков З.М.У. АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ТЕРРИТОРИИ «ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НЕБЛАГОПОЛУЧИЯ».....	219
Рябченко А.Ю., Белянин В.В., Краснова Т.А. ОСОБЕННОСТИ ТРЕВОЖНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДИВШИХСЯ НА СТАЦИОНАРНОМ ЛЕЧЕНИИ В НЕВРОЛОГИЧЕСКОМ ОТДЕЛЕНИИ.....	221
Сагымбаева А.А., Сагымбаева А.А. ПРОФИЛАКТИКА СПАЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПУТЕМ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ МЫШЦ ЖИВОТА.....	223
Сагымбаева А.А., Сагымбаева А.А. ФОРМИРОВАНИЕ ЭКЗОСОМ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ ПРИ КАДМИЕВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ.....	227
Садчикова О.В. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ МЫШЕЧНОЙ ЧАСТИ ЖЕЛУДКА УТОК 6-МЕСЯЧНОГО ВОЗРАСТА ПОРОДЫ МУЛАРД.....	231
Светличная К.С. АКТУАЛЬНОСТЬ ОРГАНИЗАЦИИ УЧЕТА ЗАТРАТ, СВЯЗАННЫХ С ОБЕСПЕЧЕНИЕМ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ.....	233
Сйдакова Т.М. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАПАСОВ СЫРЬЯ МЯТЫ ДЛИННОЛИСТНОЙ В МОЗДОКСКОМ И КИРОВСКОМ РАЙОНАХ РСО-АЛАНИЯ.....	237
Соколик Е.П. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НЕЙРОАПОПТОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АЛКОГОЛИЗМЕ.....	240
Старостина А.А. ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ.....	244