

Сумчатая стадия довольно быстро формировалась на растениях с коротким периодом вегетации. Клейстотеции появлялись в массе и тогда, когда растение было сильно повреждено или поражено грибом, а его ткани были заметно истощены. Массовое развитие клейстотециев наблюдалось также после жаркого, сухого лета, во влажные же периоды вегетации мицелий мучнисторосяных грибов развивался довольно быстро, однако плодовые тела появлялись изредка и необильно.

Отмечены случаи почти полного исчезновения мицелия с поверхности отдельных питающих растений (напр., кленов, жимолости), что способствовало отделению оставшихся плодовых тел от растений-хозяев и их распространению.

У тех форм мучнисторосяных грибов, которые образуют плодовые тела в более ранние сроки, возможен, вероятно, такой цикл развития, при котором могут сформироваться в течение вегетационного периода несколько поколений клейстотециев.

На ряде растений (напр., огурцах, тыквах, хризантемах) мучнисторосяные грибы развивают до поздней осени только мицелий и конидии, не образуя плодовых тел.

Список литературы

1. Гирлович И. С., Лемеза Н. А., Шуканов А. С. Видовой состав мучнисторосяных грибов (сем. Erysiphaceae) Белоруссии/Редкол. журн. «Весті АН БССР. Сер. біял. навук». Мн., 1989. 17 с. Деп. в ВИНТИ 03.08.89. № 5237-В 89.
2. Стефанович А. И.//Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2: Хим. Биол. Геогр. 1989. № 2. С. 39.
3. Купревич В. Ф.//Тр. АН БССР. Мн., 1939. Вып. 1—2. С. 95.
4. Гулецкая Е. А.//Учен. зап. БГУ. Сер. биол. 1957. Вып. 33. С. 95.
5. Дорожкин Н. А., Чекалинская Н. И. Болезни люпина. Мн., 1965.
6. Стефанович А. И.//Экология и биология низших растений: Тез. докл. IX Всесоюз. симпозиума микологов и лихенологов Прибалтийских Советских Республик и Белорусской ССР. Мн., 1982. С. 167.

УДК 661.728:615.9] - 99

В. А. АЛИНОВСКАЯ, Ф. Н. КАПУЦКИЙ, В. А. СТЕЛЬМАХ,
В. И. ТАЛАПИН, Т. Л. ЮРКШТОВИЧ

ПОЛИКАПРАН. 1. СОЗДАНИЕ, ГЕМОСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Проблема гемостаза при кровотечениях различной этиологии является наиболее актуальной для современной хирургической гематологии [1, 2], особенно при нарушениях свертывающей системы крови [3]. С целью обогащения практической медицины эффективным местным средством, способным купировать травматические и гемофилические кровотечения, в том числе и при имплантационном применении, разработан и испытан оригинальный полимер-лекарственный комплекс полиангидрогликуроновой (ПАГК) и Σ -аминокапроновой кислот (Σ -АКК), получивший фармакопейное название поликапран [4].

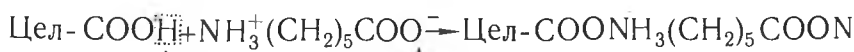
Материал и методика

Комплексное изучение поликапрана включало исследование физико-химических процессов его получения с оценкой основных химико-аналитических констант продукта и медико-биологические эксперименты, позволившие дать характеристику гемостатической активности препарата и его безвредности для организма.

Полиангидрогликуроновую кислоту получали окислением целлюлозы в виде трикотажного полотна 40 %-ным раствором двуокиси азота в четыреххлористом углероде в течение 24 ч при температуре 19–21 °С. Полученную полиангидрогликуроновую кислоту (ПАГК) анализировали на содержание карбоксильных групп [5] и связанного азота [6], присутствующего в виде нитроэфирных групп, образующихся в результате протекания побочного процесса нитрования. Содержание нитроэфирных

групп в ПАГК не превышало 0,3–0,4 масс. %, что соответствует медицинским требованиям к оксицеллюлозным препаратам (не более 0,7 масс. %) [7].

Синтез поликапрана осуществляли путем проведения ионообменной сорбции Σ -аминокапроновой кислоты (Σ -АКК) полиангидроглюкуроновой кислотой при рН раствора, соответствующего области существования цвиттерионной формы аминокислоты, согласно уравнению реакции:



Образование данного полимер-лекарственного комплекса подтверждается методом ИК-спектроскопического исследования (рис. 1): на ИК спектрах увеличивается интенсивность полосы поглощения 1630 см^{-1} валентных колебаний карбоксилат-иона и сохраняется интенсивность полосы поглощения 1730 см^{-1} валентных колебаний $\text{C}=\text{O}$ карбоксильной группы [8]. Содержание Σ -АКК в полимер-лекарственном комплексе определяли по азоту методом Кьельдаля [6].

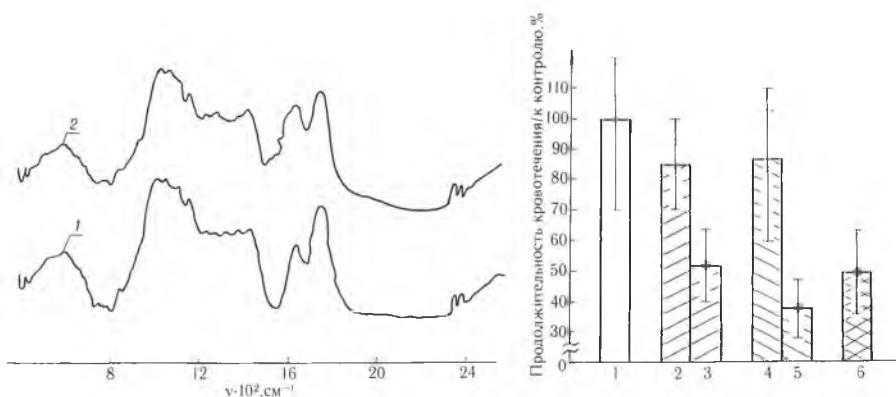


Рис. 1. ИК спектры образцов ПАГК (1) и поликапрана (2)

Рис. 2. Продолжительность кровотечения (в % к контролю) из модельной раны печени крысы при обработке геморрагических поверхностей:

1 – 0,85 %-ным раствором NaCl (контроль); 2 – 0,5 и 3 – 2,0 %-ными растворами Σ -АКК; 4 – 0,16 и 5 – 0,32 %-ными растворами ПАГК; 6 – раствором поликапрана (0,5% Σ -АКК и 0,16% ПАГК). * – статистически достоверные различия с контролем

Эксперименты проведены на четырех видах лабораторных животных обоего пола: белых мышах, белых крысах, морских свинок и кроликах. Оценку гемостатической активности поликапрана осуществляли на трех моделях: поверхностного наружного (капиллярного) кровотечения (линейная рана кожи спины у крыс и морских свинок), наружного глубокого (травматическое кровоизлияние из венул и артериол хвоста у крыс) и паренхиматозного (дозированная рана печени у крыс и кроликов). Гемостаз осуществляли наложением салфеток из ткани поликапрана, время остановки кровотечения фиксировали визуально по секундомеру в сравнении со стандартным препаратом – марлей кровоостанавливающей [7]. Для уточнения сравнительных гемостатических характеристик ингредиентов поликапрана проведено изучение кровоостанавливающей активности растворов полиангидроглюкуроновой и Σ -аминокапроновой кислот, а также поликапрана на модели печеночного кровотечения у крыс. Все оперативные вмешательства осуществляли на наркотизированных гексеналом (60 мг/кг, внутривенно) животных [9]. Токсичность препарата, влияние на кожные покровы и слизистые оболочки, изучение сенсибилизирующей и кумулятивной способности проводили общепринятыми экспериментально-фармакологическими, биохимическими и иммунологическими методами [9, 10, 11, 12, 13].

Экспериментальные данные подвергнуты статистическому анализу [10].

Результаты и их обсуждение

Гемостатическая активность ткани поликапрана на всех трех испытанных моделях резко превосходит кровоостанавливающую активность препарата сравнения, при этом полный эффективный гемостаз осуществляется в два-три раза быстрее, чем с помощью марли кровоостанавливающей. Салфетки поликапрана практически мгновенно купируют капиллярное кровотечение и в течение 0,75–2,0 ч в местах соприкосновения с геморрагической поверхностью приобретают буро-черный цвет, размягчаются и разволокняются, покрывая раневые поверхности пленкой черного цвета. На вторые и последующие сутки повторных кровотечений не наблюдается, линейные раны кожи заживают первичным натяжением. Эффективно купирует ткань поликапрана и модельное кровотечение, возникающее в результате травматического повреждения хвостовых венул и артериол, а также кровоизлияние из дозированной раны печени. Следовательно, вне зависимости от величины, силы и характера кровотечения (вплоть до фонтанирующего из мелких артерий), а также вида подопытных животных (крысы, морские свинки, кролики) гемостаз наступает в 100 % случаев по всей площади геморрагической поверхности без признаков повторных кровоизлияний.

Полимер-лекарственный комплекс Σ -АКК и ПАГК проявляет гемостатические свойства не только в виде ткани, но и в виде коллоидных растворов. Так, на модели паренхиматозного кровотечения из строго стандартизированной раны печени раствор поликапрана обладает гемостатической активностью, превосходящей по своей силе кровоостанавливающую способность отдельных его ингредиентов (рис. 2). В условиях индивидуального воздействия 0,32 %-й раствор ПАГК и 2,0 %-й раствор Σ -АКК статистически достоверно ($p < 0,01$) снижают продолжительность паренхиматозного кровотечения, а 0,16 %-й раствор ПАГК и 0,5 %-й раствор Σ -АКК не проявляют в данных условиях эксперимента статистически значимого кровоостанавливающего эффекта. В это же время коллоидный раствор поликапрана, идентичный содержанию 0,5 % раствора Σ -АКК и 0,16 % ПАГК, обеспечивает при обработке геморрагической поверхности раны печени крыс выраженный гемостаз (длительность кровотечения: контроль – $263,7 \pm 17,4$ с, опыт – $132,2 \pm 15,4$ с, $p < 0,001$).

В экспериментах на белых крысах и мышах установлено, что однократное внутрижелудочное, внутрибрюшинное и подкожное введение растворов поликапрана, Σ -АКК и ПАГК в максимально возможных объемах и дозах (для мышей – 5,0 и для крыс – 1,5 г/кг) не вызывает гибели животных и каких-либо проявлений интоксикации, т. е. продукт является практически нетоксичным химическим соединением (IV класс токсичности по классификации [14]). В условиях длительного внутрижелудочного введения в массивных количествах растворы поликапрана не обладают кумулятивными свойствами и не способны к формированию токсических эффектов, приводящих к патологическим нарушениям. Так, в процессе эксперимента не отмечено статистически значимых отличий в общем состоянии крыс, в морфо-функциональном статусе центральной нервной, сердечно-сосудистой и эритропоэтической систем подопытных животных. В то же время в периферической крови крыс наблюдается стойкий тромбоцитоз (увеличение количества тромбоцитов в 1,32–1,48 раза по сравнению с контролем, $p < 0,05$), лейкоцитопения, связанная с лимфоцитопенией, и ретикулоцитоз (таблица). Такого рода изменения в функциональном состоянии крови свидетельствуют об индукции под влиянием поликапрана адаптационно-приспособительных процессов, а не гемотоксических проявлений, так как выявленные сдвиги находятся в пределах физиологической нормы для популяции [15].

Поликапран является реакционно активным в отношении катионов щелочных металлов и низкомолекулярных биологически активных веществ и тем самым способен к участию в водно-солевом обмене организма и к индукции изменений в функциональном статусе основного органа, регулирующего данный вид обмена – почек. Так, 60-суточное введение поликапрана, не приводящее к изменениям в диурезе и рН мочи, в уровнях содержания белка в моче и его экскреции, а также в значениях массы почек, вызывает сдвиги в обмене мочевины и хлорид-

ионов (см. таблицу). По отношению к мочеvine биологическое действие поликапрана проявляется двояко: в начале эксперимента наблюдается повышенное содержание этого азотистого соединения в крови и в моче, увеличенная экскреция и значительно возросшая способность почек к выведению мочевины из организма. К концу опыта регистрируется обратная направленность процессов, наблюдается тенденция к снижению концентраций мочевины в крови и моче подопытных крыс и уровня ее экскреции с мочой, а клиренс мочевины составляет только 84,3 %

Некоторые морфо-функциональные показатели белых крыс на 60-е сут. внутрижелудочного введения поликапрана в суммарной дозе 15 г/кг (M±m)

Морфо-функциональные показатели	Группы животных	
	контроль	опыт
Частота сердечных сокращений, уд/мин	555,0±8,41	493,9±13,42
Цветной показатель крови, усл. ед.	0,53±0,010	0,55±0,009
Содержание лейкоцитов в крови, 10 ⁹ /л	14,43±0,69	10,31±0,44*
Содержание лимфоцитов в крови, 10 ⁹ /л	10,56±0,69	7,45±0,45*
Количество ретикулоцитов в крови, ‰	3,00±0,33	6,38±0,57**
Количество тромбоцитов в крови, тыс/мкл	306,0±6,09	452,5±8,78**
Суточный диурез, л ⁻³	7,91±1,78	6,78±1,14
pH мочи	6,57±0,33	6,38±0,20
Содержание мочевины в моче, мМ/л	451,9±24,05	420,5±11,52
Экскреция мочевины с мочой, мкМ/сутки	3,59±0,86	2,85±0,52
Содержание мочевины в крови, мМ/л	4,47±0,17	4,96±0,08
Клиренс мочевины почками, усл. ед.	35,26±1,54	29,72±0,88*
Содержание хлоридов в моче, мМ/л	90,86±4,08	86,63±3,15
Содержание хлоридов в крови, мМ/л	88,1±2,26	89,0±0,67
Содержание белка в моче, г/л	0,136±0,017	0,149±0,014
Содержание глюкозы в крови, мМ/л	3,17±0,15	3,99±0,19
Активность аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови, мкМ субстрата/мл.час	2,36±0,06	2,37±0,05
Активность глюкозо-6-фосфатазы в сыворотке крови, мкг P/мл	314,6±11,94	328,1±5,68
Активность анилингидроксилазы в гомогенатах печени, нМ субстрата/кг белка	3,5±0,17	4,2±0,21*
Активность аминопириндемстилазы в гомогенатах печени, мкМ субстрата/кг белка	10,4±0,51	11,4±0,45
Относительные коэффициенты массы, г/кг:		
печени	31,13±1,90	31,04±1,00
почек	7,65±0,61	7,56±0,38
сердца	4,12±0,15	3,90 ±0,19
легких	8,05±0,34	7,41±0,23
желудка	8,34±0,31	7,62±0,31

Примечания: *—статистически достоверные изменения по сравнению с контролем (*—p<0,05; **—p<0,01)

показателя контрольных крыс (p<0,05). Содержание хлорид-ионов в сыворотке крови на протяжении всего эксперимента у контрольных и опытных крыс не имеет между собой статистически значимых различий.

Однако их концентрация в моче опытных животных на 30-е сутки опыта превышает контрольный уровень на 15,3 % ($p < 0,05$) и соответственно экскрецию хлоридов с мочой на 22,5 % ($p < 0,05$). В дальнейшем наблюдается тенденция к снижению под влиянием поликапрана концентрационных и экскреционных показателей мочи по хлорид-ионам (см. таблицу).

Длительное внутрижелудочное введение поликапрана определенным образом влияет на функциональное состояние печени животных (см. таблицу). При этом не выявлено сдвигов в ферментативном статусе печени, характеризующем цитолитический синдром (активность аминотрансфераз и фосфатазы в сыворотке крови), и в массе печени. В то же время регистрируется возрастание под влиянием поликапрана показателей детоксицирующей функции печени: наблюдается повышение активности анилингидроксилазы в гепатоцитах на 30-е и 60-е сут опыта соответственно на 37,5 и 20,0 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Указанные изменения, а также возросший уровень глюкозы в крови на 15-е сут (контроль – $3,12 \pm 0,4$; опыт – $4,48 \pm 0,27$ мм/л, $p < 0,01$) у подопытных крыс свидетельствует об адаптогенном действии поликапрана, что может быть интерпретировано в качестве проявления антитоксического компонента в биологическом действии данного химического соединения.

Поликапран и его растворы при однократном и длительном воздействии не вызывают воспалительных реакций на коже и слизистых оболочках белых крыс, морских свинок и кроликов. При повторных эпикутанных аппликациях поликапран демонстрирует признаки трансдермальной резорбции и способен к индукции морфо-функциональных сдвигов в организме крыс, идентичных проявлениям биологического действия препарата в условиях перорального применения.

При оценке сенсибилизирующей активности поликапрана на морских свинках-альбиносах по стандартной методике [11] установлено, что препарат не способен к индукции состояния гиперчувствительности замедленного типа в организме теплокровных животных. Кроме этого, поликапран не вызывает выработки комплементсвязывающих, агглютинирующих, преципитирующих и цитотоксичных аллергенкомпетентных антител, не вызывает иммунные реакции клеточного и гуморального типа, т. е. не обладает сенсибилизирующей активностью и является аллергобезопасным.

Результаты токсикологических испытаний поликапрана позволяют считать его безопасным лекарственным средством, местное применение которого не способно приводить к индукции в организме нежелательных побочных реакций.

Полученные данные позволяют констатировать, что создан полимер-лекарственный комплекс Σ -аминокапроновой и полиангидроглюкуроновой кислот (поликапран), являющийся эффективным местным прокоагулянтом, способным купировать модельные кровотечения различного характера, локализации и силы. По своим медико-биологическим свойствам поликапран является относительно безвредным для организма химическим соединением, не обладает местно-раздражающей, кумулятивной и сенсибилизирующей активностью; характер его биологического действия на организм является тождественным таковому других ионоактивных полимеров [16].

Список литературы

1. Фермилен Ж., Ферстрате М. Гемостаз/Пер. с франц. М., 1984.
2. Фурманов Ю. А. Современные аспекты экспериментальной хирургии: Тез. докл. IV съезда хирургов Украины. Киев, 1984. С. 187.
3. Андреев Ю. Н., Климанский В. А.//Терапевтический архив. 1983. № 8. С. 95.
4. Поликапран/ВФС 42-2033-90. М., 1960.
5. Капущкий В. Е., Юркштович Т. Л., Балабаева М. Д.//Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2: Хим. Биол. Геогр. 1978. № 1. С. 15.
6. Губен-Вейль. Методы органической химии. М., 1963.
7. Марля кровоостанавливающая/ФС 42-1116-88. М., 1988.
8. Ермоленко И. Н., Жбанков Р. Г.//Коллоид. жур. 1958. Т. 20. № 4. С. 429.
9. Гацуря В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М., 1974.

10. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959.
11. Алексеева О. Г., Петкевич А. И. // Гигиена и санитария. 1972. № 3. С. 64.
12. Методы определения токсичности и опасности химических веществ/Под ред. И. В. Саноцкого. М., 1970.
13. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте: Методическое руководство/Под ред. У. А. Кузьминской. Киев, 1989.
14. Сидоров К. К. // Токсикология новых промышл. химич. веществ. Л., 1973. Вып. 13. С. 47.
15. Проблемы, нормы в токсикологии, современные представления и методические подходы, основные параметры и константы/Под ред. И. М. Трахтенберга. М., 1991.
16. Платэ Н. А., Васильев Е. А. Физиологически активные полимеры. М., 1986.

УДК 577.391 + 616.006

М. Ф. КУКУЛЯНСКАЯ, И. П. ХРИПЧЕНКО, А. Т. ПИКУЛЕВ

АКТИВНОСТЬ ГЕКСОКИНАЗЫ И УРОВЕНЬ ПИРИДОКСАЛЕВЫХ КОФЕРМЕНТОВ В САРКОМЕ М1 И КАРЦИНОСАРКОМЕ УОКЕРА ПРИ КОМБИНИРОВАННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ НА ОПУХОЛЬ

В настоящее время возрастает интерес к веществам или воздействиям, которые усиливают противоопухолевую активность химиопрепаратов. Применение таких модификаторов чувствительности опухолей, как гипергликемия и гипертермия на фоне цитостатических препаратов дает возможность установить предпочтительные сочетания воздействий, приводящих к снижению интенсивности метаболических процессов и регрессии опухоли.

В связи с этим нами было проведено изучение активности гексокиназы (ГК 2.7.1.1 КФ), обеспечивающей включение глюкозы в гликолиз, т. е. показателя интенсивности энергетических процессов в опухоли и уровня фосфорилированных форм витамина В₆ (пиридоксальфосфата – ПАЛФ и пиридоксаминфосфата – ПАМФ), которые обеспечивают метаболические реакции коферментами, в саркоме М1 и карциносаркоме Уокера-256. Исследования проводили при комплексном воздействии на организм опухоленосителя цитостатика, гипергликемии и СВЧ-гипертермии в различной последовательности.

Материал и методика

Эксперимент выполнен на беспородных белых крысах обоего пола массой 120–150 г. Переживку опухолей штаммов саркомы М1 и карциносарком Уокера-256 осуществляли подкожным введением в паховую область 1,5 мл 20 % взвеси опухолевых клеток в 0,9 %-ом растворе NaCl.

На 7-е сут (карциносаркома Уокера) или на 12-е (саркома М1) после трансплантации опухоли в условиях нейролептоанальгезии (внутримышечное введение смеси дроперидол и фентанил 2:1 в количестве 0,3 мл на 100 г массы) начинали воздействия [1].

Из цитостатических препаратов использовали циклофосфан, относящийся к группе алкилирующих агентов, и адриабластин – антрациклиновый антибиотик. Циклофосфан вводили внутримышечно из расчета 80 мг/кг массы, а адриабластин – внутривенно: 5 мг/кг массы животного.

Гипергликемию вызывали внутрибрюшинным введением глюкозы в виде 40 % раствора из расчета 6 г/кг массы.

Сеанс локальной СВЧ-гипертермии проводили на установке «Парус» при температуре +42 °С в течение 30 мин. Частота электромагнитного излучения 2400 мГц (λ – 12,6 см).

В опыт животные брались через сутки после последнего воздействия. Подготовку тканей к исследованиям проводили по описанным ранее методам [1]. Использовали надосадочную жидкость (гиалоплазма + микросомы) и митохондрии.