



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34455 (13) U

(51) МПК (2006)

A61K 31/00

G09B 23/28 (2008.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ЕПІТАЛОНУ ЯК ПРЕПАРАТУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ЗМІН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПРИ СТРЕСІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

1

2

(21) u200803519

(22) 19.03.2008

(24) 11.08.2008

(46) 11.08.2008, Бюл. № 15, 2008 р.

(72) ПІШАК ВАСИЛЬ ПАВЛОЕИЧ, УА, ЛОМАКІНА  
ЮЛІЯ В'ЯЧЕСЛАВІВНА, УА, ВИСОЦЬКА ВІОЛЕТ-

ТА ГЕОРГІЄВНА, УА, БУЛИК РОМАН ЄВГЕНОВИЧ, УА

(73) БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ, УА

(57) Застосування епіталону як препарату для корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті.

Корисна модель належить до медицини та біології та може бути використана при проведенні експериментальних досліджень та вивченні дії епіталону на організм лабораторних тварин та людини.

Епіталон - пептидний препарат епіфіза (тетрапептид (Ала-Глу-Асп-Глі)), розроблений у Санкт-Петербурзькому інституті біорегуляції та геронтології СЗО РАМН, синтезований на основі амінокислотного аналізу епіталаміну.

Відомими є застосування епіталону як гомеостатичного засобу у геронтології, що відкриває шлях до проблеми подовження середньої тривалості життя людини. Досліджено, що регуляторним пептидам властивий широкий спектр біологічної активності, що вказує на важливе значення цих молекул у координації функцій багатоклітинного організму, серед яких є виражений вплив на захисні функції організму, гемопоез, репродуктивну систему та стимулююча дія на репаративні процеси [Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Пептидная регуляция гомеостаза при старении // Успехи геронтологии. - 2000. - №4. - С.75-79., Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х., Симоненкова В.А., Меркурьева Г.А. Применение эпителина при климактерической миокардиопатии // Клини. мед. - 1995. - №4. - С.40-41., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). - СПб.: Наука, 1996. - 74с.]

Нами пропонується рішення, яке значно розширює сферу застосування епіталону.

В основу корисної моделі поставлене завдання розширення галузі застосування епіталону для

корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті.

Поставлене завдання вирішується тим, що епіталон застосовують для корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті.

Теоретичне підґрунтя для застосування способу.

У Санкт-Петербурзькому інституті біорегуляції та геронтології ПЗО РАМН вивчали вплив епіталону на вікову динаміку ПОЛ у індаптивних лініях *Drosophila Melanogaster*. Встановлено, що одноразове введення епіталону на личинковій стадії знижує рівень кон'югованих гідроперекисей та основ Шиффа впродовж всього життя імаго. Охарактеризовані міжлінійні і міжстатеві різниці динаміки досліджуваної ознаки [Хавинсон В.Х., Мыльников С.В. Влияние эпителина на возрастную динамику ПОЛ у *Drosophila Melanogaster* // Бюл. эксперим. биол. и медицины. - 2006. - Т. 130, №11. - С. 585-588.]. Також проводили аналіз змін ферментної та не ферментної ланок АОС в органах та тканинах щурів за різних світлових режимах та введенні мелатоніну та епіталону. З'ясували, що неферментна ланка АОС виявилася більш чутливою до світлового проміжку та уведеним препаратам: максимальна кількість змін активності антиоксидантних ферментів і жиророзчинних вітамінів під впливом препаратів відмічено у групі тварин, яких утримували при постійному освітленні, мінімальне - в умовах природної зміни дня й ночі [Виноградова І.А., Илюха В.А., Ильина Т.Н., Узенбаева Л.Б., Федорова А.С. Влияние мелатонина и эпителина на антиоксидантную систему крыс зависит от све-

(19) UA (11) 34455 (13) U

тового режиму // Патол. фізіол. і експерим. терапія. - 2006. - №3. - С. 22-26.]

Використання корисної моделі, що заявляється, підтверджується наступними експериментальними даними.

Досліди виконано на 54 старих (20-24міс) нелінійних білих щурах-самцях масою 300±10г. Впродовж 1міс до початку та протягом експерименту тварин утримували у віварії за умов сталої температури (18-21°C), вологості повітря (50-55%) в окремих клітках з вільним доступом до води та їжі. Фотоперіодичні зміни в організмі тварин моделювали впродовж 1 тижня шляхом зміни режимів освітлення за допомогою лампи штучного світла (інтенсивність освітлення не менше 500 Лк: 1) 12.00С (світло): 12.00Т (темрява); 2) 24.00С:00Т; 3) 00С:24.00Т. Імобілізаційний стрес моделювали на 8-му добу експерименту шляхом утримання тварин впродовж 1год у пластикових клітках пеналах.

Для проведення дослідження використовували синтетичний пептид шишкоподібної залози - епіталон у дозі 0,17мкг/100г щура, в/м, синтезований у Санкт-Петербурзькому інституті біорегуляції та геронтології ПЗО РАМН (Росія). Декапітацію тваринам проводили о 14.00год під легким ефірним наркозом згідно з положеннями "Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986). За 24год до експерименту тварин утримували без їжі з вільним доступом до води. Цільну кров стабілізували розчином ЕДТА (1,0мг/мл крові), розділяли на плазму (центрифугування при 3000об/хв, 15хв) і еритроцити (з триразовим промиванням охолодженням фізіологічним розчином натрію хлориду). У плазмі крові визначали вміст церулоплазміну (ЦП) [Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. - Мн.: Интерпрессервис, 2003. - Т. 2. - С. 74-75.] і HS-груп [Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Метод кількісного визначення HS-груп у крові // Бук. мед. вісник. - 2002. - Т.6, №2. - С. 190-192.] та ОМБ [Мещишен І.Ф. Метод визначення окисно-модифікованих білків плазми (сироватки) крові / Бук. мед. вісник. - 1998. - Т.2, №1. - С.156-158.]; в еритроцитах - рівень малонового альдегіду та активність каталази [Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. - Мн.: Интерпрессервис, 2003. - Т. 2. - С. 74-75.]. Отримані результати оброблені методом варіаційної статистики за допомогою програми "BIOSTAT".

Результати проведених досліджень вказують на те, що одноденний імобілізаційний стрес у старих щурів за умов 12.00С:12.00Т впродовж семи діб викликав активацію ПОЛ (рівень малонового альдегіду зростав на 46,0%) та окисної модифікації білків (показник ОМБ зростав вдвічі порівняно з контролем). За цих же умов експерименту активність каталази еритроцитів та вміст HS-груп у плазмі крові зменшилися на 51,6 і 42,7% відповідно, а рівень церулоплазміну підвищився на 80,8%.

Уведення стресованим тваринам епіталону наближало рівні в крові МА, ОМБ та активність

каталази до норми; рівень ЦП та HS-груп проявляв чітку тенденцію наближення до величин контролю.

Постійне освітлення (тварини четвертої групи) посилює (у 2,5 рази) окисну модифікацію білків плазми крові та активацію каталази (на 24,6%). Відносно інших показників, то вони не відрізнялися від тварин контрольної групи (12.00С:12.00Т). Імобілізаційний стрес на фоні тривалого освітлення призводив до різкого підвищення в крові вмісту МА (на 55,6%) та ОМБ (майже втричі порівняно з контролем) і незначного зростання величини церулоплазміну (на 30,0%). Активність каталази та рівень HS-груп знижувалися на 38,4 і 32,7% відповідно. Уведення епіталону на фоні постійного освітлення та імобілізаційного стресу призвело до вираженої тенденції щодо нормалізації вивчених показників: рівні в крові МА (зменшився на 7,3%), ОМБ (зменшився на 47%) та церулоплазміну (на 25%), а активність каталази та вміст HS-груп наблизилися до рівня контролю.

За умов постійної темряви жоден із досліджуваних показників про- та антиоксидантної системи не зазнавали вірогідних змін порівняно з тваринами контрольної групи.

Імобілізаційний стрес на фоні тижневої темряви викликав, як і у всіх попередніх дослідних групах тварин, підвищення в крові рівня МА, ОМБ, церулоплазміну та зниження активності каталази та вмісту HS-груп. Уведення таким тваринам епіталону нормалізувало показники МА (зменшення на 25%), ОМБ (зменшення на 42%), каталази (підвищення на 41%) та ЦП (зменшення на 18%), а вміст HS-груп залишався вірогідно нижчим порівняно з тваринами контрольної групи.

Проведені дослідження вказують на те, що гіпофункція (постійне освітлення) та гіперфункція (постійна темрява) епіфіза мозку по-різному впливають на показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів. Так, при гіпофункції шишкоподібної залози (7-ми добове освітлення) має місце активація процесів ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білків та пригнічення антиоксидантного захисту, тоді як при гіперфункції (7-ми добова темрява) не спостерігається вірогідних змін цих показників щодо контролю. Цей факт можна пояснити різною функціональною активністю шишкоподібної залози залежно від світлового періоду доби.

Імобілізаційний стрес за умов зміненого фотоперіоду викликає різку активацію вільнорадикальних процесів на фоні зниження антиоксидантного захисту крові старих щурів. Уведення тваринам епіталону за цих умов призводить до нормалізації досліджуваних показників, що може вказувати на його безпосередню (як месенджера вільних радикалів), чи посередню (через продукцію мелатоніну шишкоподібною залозою) антиоксидантну дію.

Таким чином, при вивченні корегуючого впливу епіталону на показники ПОЛ - а саме на рівень малонового альдегіду при імобілізаційному стресі доведено, що епіталон найефективніше відновлює показник МА при гіперфункції епіфіза мозку - на 25%. При дослідженні процесів вільного радикального окиснення, показник ОМБ найкраще прореагував на вплив епіталону за умов гіпофункції

шишкоподібної залози - відмічається зменшення цього показника на 47%.

Технічний результат: використання епіталону має виражений вплив на стан про- та антиоксида-

нтного захисту при стресі в експериментальних тварин та дозволить розширити його сферу застосування.