

Лосева И.В., Кулмагамбетов И.Р., Муравлева Л.Е.

## УРОВЕНЬ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ДИФЕНГИДРАМИНА С ЭТАНОЛОМ

УДК: 618. -092.9:615.21

*В результате проведенных исследований выявлено, что дифенгидрамин, введенный в сочетании с этанолом влияет на состояние обмена нуклеиновых кислот и их окислительную модификацию в плазме и эритроцитах крови животных.*

*As a result of investigation is revealed that diphenhydramine, injected in combination with ethanol influences upon condition of the metabolism of nucleic acids and its oxidative modification in plasma and erythrocytes of the blood of animals.*

Дифенгидрамин – диметилловый эфир бензгидрола синтезирован в 1948-49 годах и уже десятки лет применяется в качестве фармакологического средства в практическом здравоохранении в основном как антигистаминный препарат.

С позиций доказательной медицины дифенгидрамин относится к мало изученным лекарственным средствам, несмотря на его широкое применение в клинической практике [1]. Так, механизмы реализации его токсических эффектов до сих пор не достаточно ясны. Вместе с тем, одной из ключевых особенностей доказательной информации является необходимость восполнения знаний в имеющихся свидетельствах по фармакодинамическим эффектам дифенгидрамина, в том числе, токсикологическим. Не достаточно ясны и механизмы его взаимодействия с другими лекарственными веществами, в частности, с этанолом, отравления в комбинации с которым часто встречаются в клинике.

В последнее время большое внимание уделяется изучению свободно-радикальных процессов в организме при различных патологических состояниях, в том числе и при лекарственных интоксикациях [2, 3, 4]. В условиях окислительного стресса функциональная активность клеток значительно меняется за счет окислительной модификации различных внутриклеточных биомолекул. Роль АФК признается не только в процессах перекисного

окисления липидов, но и белков, а также нуклеиновых кислот [5].

Целью нашей работы стало определение нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), в плазме крови и эритроцитах животных при воздействии комбинации дифенгидрамина с этанолом в эксперименте, а также кислоторастворимых фракций (КРФ), уровень которых может характеризовать интенсивность процессов окислительной модификации нуклеиновых кислот.

### Материалы и методы

Исследования проводились на белых крысах-самцах с массой тела 180 - 200 гр. Для воспроизведения интоксикации дифенгидрамин вводился в комбинации с этанолом в дозах 5мг/кг и 7 мг/кг соответственно. Выведение животных из эксперимента проводили через 2 часа, а также через 3 дня и 7 дней после однократного воздействия. В качестве группы сравнения использовали животных, которым вводился только этанол в дозе 7 мг/кг. Контрольные группы составили одинаковые по весу с опытными животные и содержащиеся в одинаковых с опытными условиях.

Кислоторастворимые фракции нуклеиновых кислот (КРФ), РНК и ДНК выделяли из периферической крови и определяли их уровень в плазме и эритроцитах. Нуклеиновые кислоты экстрагировали после последовательного гидролиза, проводимого при различной температуре с помощью хлорной кислоты определенной концентрации по методу E.W.Johns в модификации Л.И.Маркушевой с соавторами [6]. Результаты выражали в единицах оптической плотности, отнесенных на 1 мл плазмы крови или эритроцитов.

### Результаты и обсуждение

Изменения уровней кислоторастворимых фракций нуклеиновых кислот, РНК и ДНК в плазме крови крыс под действием этанола и комбинации дифенгидрамина с этанолом представлены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели, Ед-цы из мер.	КРФ Единицы ОП/1 мл		РНК Единицы ОП/1 мл		ДНК Единицы ОП/1 мл	
	256нм	280нм	256нм	280нм	256нм	280нм
Х						
Контроль n=7	0.65 ± 0.03	0.98 ± 0.037	0.485 ± 0.025	1,31 ± 0.038*	0.37 ± 0.019	0.59 ± 0.015
Этанол, 2ч. n=6	0.425 ± 0.058*	0.488 ± 0.022*	0.353 ± 0.008*	0.522 ± 0.018*	0.52 ± 0.024*	0.656 ± 0.023
Этанол, 3дн. n=6	0.596 ± 0.013*	0.56 ± 0.014*	0.452 ± 0.03	0.744 ± 0.021*	0.334 ± 0.021	0.48 ± 0.024
Этанол, 7дн. n=6	0.66 ± 0.036	0.786 ± 0.031*	0.476 ± 0.019	0.734 ± 0.013*	0.392 ± 0.022	0.542 ± 0.022
Эт.+Диф. 2ч. n=6	0.424 ± 0.029*	0.324 ± 0.013*	0.274 ± 0.013*	0.536 ± 0.027*	0.46 ± 0.016*	0.64 ± 0.044
Эт.+Диф. 3дн. n=6	0.73 ± 0.012*	0.598 ± 0.014*	0.24 ± 0.008*#	0.336 ± 0.015*#	0.24 ± 0.02*	0.63 ± 0.008
Эт.+Дим. 7дн. n=6	0.778 ± 0.022*	0.882 ± 0.019*	0.196 ± 0.013*#	0.348 ± 0.022*#	0.17 ± 0.016*#	0.532 ± 0.027

Через 2 часа после воздействия этанол вызвал снижение уровня кислото-растворимых фракций нуклеиновых кислот, но в дальнейшем наблюдалась тенденция к восстановлению этого показателя к 7-му дню наблюдения до уровня контроля. Сходные изменения были зафиксированы и при воздействии комбинации дифенгидрамин-этанол. Кроме того, зарегистрировано снижение уровня РНК как в группе сравнения, так и в опытных группах животных, которым вводили комбинацию изучаемых веществ. Данные изменения носили более выраженный характер в опытной группе, где через 2 часа после воздействия уровень РНК снизился на 43,5% при 256 нм и на 59% при 280нм. В дальнейшем тенденция к снижению сохранилась до 7-го дня после воздействия, что может свидетельствовать о нарушении синтеза РНК в клетках плазмы и, по всей видимости, может отразиться и на уровне их белоксинтезирующей активности.

При оценке уровня ДНК в плазме, напротив, отмечается некоторое увеличение этого показателя в обеих группах через 2 часа, однако достоверный характер данные изменения носили только при 256 нм. В дальнейшем уровень ДНК в опытной группе снижался и имел на 7-й день значения ниже контрольных на 54% (при 256 нм). В тоже время этот показатель в опытной группе оказался ниже таковых в группе сравнения, где уровень ДНК находился в пределах контрольных показателей как на 3-й, так и на 7-й день.

Полученные результаты показывают, что при однократном воздействии как этанола, так и комбинации дифенгидрамина с этанолом уже через 2 часа наблюдаются изменения метаболизма нуклеиновых кислот в клетках плазмы, о чем свидетельствует снижение уровня кислоторастворимых фракций нуклеиновых кислот, а также незначительное увеличение концентрации ДНК. Данные изменения подтверждается и некоторым снижением РНК, что в свою очередь может обуславливать и

нарушения синтеза белка в клетках. К 3-му дню после однократного воздействия в группе сравнения отмечается тенденция к восстановлению обмена нуклеиновых кислот в клетках (растет уровень КРФ, РНК, концентрация ДНК соответствует контролю), а к 7-му дню после воздействия все изучаемые показатели соответствуют таковым в контрольной группе. Однако в опытных группах животных на 3-й и даже 7-й день после воздействия все еще наблюдался существенный дисбаланс в структуре нуклеиновых кислот. Это выражалось повышением уровня КРФ к 7-му дню, а также значительным снижением уровней РНК и ДНК. Данные изменения свидетельствует об активации окислительных процессов.

В результате проведенного исследования выявлено, что в группах животных, подвергшихся однократному сочетанному воздействию дифенгидрамина с этанолом, изменения метаболизма нуклеиновых кислот, а, возможно, и белков носят более выраженный характер. Причиной могут являться фармакодинамические взаимодействия лекарственных веществ в изучаемой комбинации, приводящие к потенцированию их токсических эффектов.

При определении уровня КРФ, РНК и ДНК в эритроцитах при однократном воздействии дифенгидрамина и этанола мы получили результаты, представленные в таблице 2.

Через 2 часа в эритроцитах наблюдается аналогичная таковой в плазме крови тенденция изменений в структуре нуклеиновых кислот. Уровень КРФ в группе сравнения достоверно снизился на 26.6% (при 256 нм), а уровень РНК - на 36.4%. Уровень ДНК сохранялся в пределах контрольных показателей. Через 3 дня после воздействия отмечено достоверное снижение КРФ в группе сравнения на 62% и 20.9% (при 256 и 280 нм соответственно), а в опытной группе на 39% (при 256 нм).

Таблица 2

Показатели, Ед-цы изм-я	КРФ Единицы ОП/1 мл		РНК Единицы ОП/1 мл		ДНК Единицы ОП/1 мл	
	256	280	256	280	256	280
Х Контроль n=7	2.33± 0.141	1.1± - 0.083	1.072± 0.071	0.705± 0.045	0.995± 0.053	0.133± 0.018
Этанол, 2ч. n=6	1.71± 0.072*	1.106± 0.058	0.682± 0.01*	0.684± 0.017	0.856± 0.011*	0.137± 0.02*
Этанол, 3дн. n = 6	1.884± 0.021*	0.87± 0.02*	1.086± 0.037	0.938± 0.014*	0.796± 0.021*	0.117± 0.016
Этанол, 7дн. n = 6	2.16± 0.032*	0.98± 0.056	1.12± 0.152	0.76± 0.24*	0.85± 0.016*	0.132± 0.02
Эт.+Диф. 2ч. n = 6	1.78± 0.136*	1.108± 0.084	0.766± 0.019*	0.65± 0.012	0.774± 0.041*	0.113± 0.018
Эт.+Диф. 3 дн. n = 6	0.808± 0.025*#	0.668± 0.034*	0.828± 0.03*	0.772± 0.015*#	1.23± 0.124* #	0.126± 0.016*
Эт.+Диф. 7дн. n = 6	0.876± 0.019*#	0.728± 0.034*	0.78± 0.028#	0.748± 0.01*	1.106± 0.055	0.138± 0.018

Уровень РНК в группе сравнения при 256 нм имел значения, близкие к контролю, а при 280 нм был выше контроля на 33%. В группе, получающей дифенгидрамин с этанолом, уровень РНК был ниже контрольных значений на 50.5% при 256 нм и при этом был достоверно ниже показателей в группе сравнения (на 23.7% при 256 нм и на 18% при 280 нм). Зарегистрированный уровень ДНК в группе сравнения был достоверно ниже контрольных показателей на 20% (при 256 нм), тогда как в опытной, напротив, выше контроля на 23.6% (при 256 нм).

Через 7 дней после воздействия показатели КРФ и РНК в группе сравнения достоверно не отличались от контроля. Уровень ДНК был снижен на 14.6% (при 256 нм). В опытной группе, получающей этанол с дифенгидрамином, уровень КРФ был все еще значительно ниже контроля (на 62.4% при 256 нм и на 33.8 % при 280). Ниже контроля были в этой группе также значения РНК при 256 нм (на 27.2%).

Следовательно, в эритроцитах под воздействием изучаемых веществ мы также наблюдали изменения уровней нуклеиновых кислот, в первую очередь, КРФ и РНК. Данные изменения имеют наиболее выраженный характер в опытной группе, где сохраняются даже на 7-й день после воздействия.

В результате проведенного исследования можно отметить, что этанол, а также дифенгидрамин в сочетании с этанолом оказывают влияние на состояние обмена нуклеиновых кислот и их окислительную модификацию в плазме крови животных, а также, возможно, и на процесс созревания эритроцитов. Данные изменения потенцируются дифенгидраминами при комбинированном воздействии.

#### Литература:

1. Федеральное руководство для врачей по использованию лекарственных средств, 2004г.
2. *Моргунова Т.В., Лазарева Д.Н.* Влияние лекарственных средств на свободно-радикальное окисление. Нейрофармакология. - 2000. - №1. - С.43-47.
3. William M. Lee, M.D Drug-Induced Hepatotoxicity. Medical Progress. -2003. - Vol 349. - С.474-485.
4. *Лужников Е.А., Ильяшенко К.К., Голиков П.П.* и др. Нарушение процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крови при острых отравлениях психотропными препаратами. Анестезиология и реаниматология. - 2002. - № 2. - С.20-23.
5. *Пасечник И.Н., Азизов Ю.М., Никушкин Е.В.* и др. Роль окислительного стресса как компонента критических состояний в генезе нарушений гемостаза. Анестезиология и реаниматология. - 200. - №3. - С.41-44.
6. *Маркушева Л.И., Савина М.И., Решина В.М.* и др. Ядерные белки хроматина в оценке эффективности лечения больных псориазом. Клиническая лабораторная диагностика. - 2000. - №7. - С.18-20.