

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 19622

(13) С1

(46) 2015.10.30

(51) МПК

A 61K 31/195 (2006.01)

A 61K 31/315 (2006.01)

A 61P 39/00 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ В МОЗГЕ ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

(21) Номер заявки: а 20121724

(22) 2012.12.10

(43) 2014.08.30

(71) Заявители: Шейбак Владимир Михайлович; Лях Иван Владимирович (ВУ)

(72) Авторы: Шейбак Владимир Михайлович; Лях Иван Владимирович (ВУ)

(73) Патентообладатели: Шейбак Владимир Михайлович; Лях Иван Владимирович (ВУ)

(56) SHCHOVSKA M.A. et al. Vet. Arhiv. - 2006. - V. 76. - P. 65-73.
ЛЯХ И.В. и др. Проблемы здоровья и экологии. - 2012. - № 1. - С. 130-135.
CN 1823814 A, 2006.
UA 31338 U, 2008.

(57)

Композиция для коррекции нейромедиаторных нарушений в мозге при свинцовой интоксикации, содержащая таурин и цинка аспарагинат в соотношении 4:1.

Изобретение относится к области медицины, а именно к применению известных лекарственных средств по новому назначению.

Учитывая повсеместное распространение свинца в биосфере, актуально создание композиций, препятствующих его негативному действию. В мировой практике существует достаточно широкий арсенал средств для снижения токсического воздействия свинца на организм.

Так доказана эффективность использования витамина В6 для нормализации уровней аминокислот в плазме [7] и комплекса витаминов для восстановления кроветворных функций [6].

Однако эффективности данных препаратов для нормализации нейрхимических сдвигов не изучалась.

Для снижения токсического воздействия свинца на слюнные железы показана эффективность такого микроэлемента как селен [1].

Как в случае с предыдущими препаратами о его нейропротекторных свойствах нет данных.

Известно об использовании аминокислот (метионин, β -аланин, цистин) для снижения индуцируемых свинцом изменений в антиоксидантной системе головного мозга [3].

Но в свете воздействия свинца на уровни нейротрансмиттерных аминокислот, которые являются непосредственными маркерами нейротоксического воздействия свинца, эти препараты не изучались.

Наиболее близкой к заявляемому препарату является композиция, содержащая цинк и лизин [4]. Совместное введение цинка и лизина снижает накопление свинца в тканях и препятствует реализации токсических эффектов свинца.

Однако в данном исследовании наибольший корректирующий эффект композиция вызвала при введении свинца совместно с этанолом, состояние нейромедиаторных систем при этом не изучалось.

Задачей изобретения является расширение арсенала средств для снижения нейротоксических эффектов свинца.

Поставленная задача решается путем применения композиции, содержащей таурин и цинка аспарагинат в количественном соотношении 4:1, для коррекции нейромедиаторных нарушений в мозге при свинцовой интоксикации.

Одним из компонентов нашего препарата является цинк, о протективных свойствах этого металла в отношении наиболее чувствительной к воздействию свинца системы кроветворения известно давно [2]. Применение цинка на фоне введения свинца благоприятно сказывается на репродуктивной системе. Коррекция цинком (1 мг/кг) 8-недельной свинцовой интоксикации (10 мг/кг) приводила к нормализации диаметра семенных канальцев и средней зародышевого эпителия в семенниках крыс [9]. Совместное внутривентральное введение цинка и свинца на протяжении семи дней в дозах 4 мг/кг и 25 мг/кг, соответственно, снижало долю аномальных сперматозоидов у самцов крыс [8].

Вторым компонентом нашего препарата была выбрана нейроактивная тормозная аминокислота таурин, нейропротекторные свойства которой при свинцовой интоксикации представлены в немногочисленных исследованиях. Показано, что использование при свинцовой интоксикации таурина препятствует снижению уровня глутатиона, уменьшает концентрацию малонового диальдегида и активности каталазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [5]. Введение таурина крысам, подвергшимся воздействию свинца в пренатальном, перинатальном и лактационном периодах развития, снижает содержание свинца в гиппокампе, увеличивает амплитуду долговременной потенциации и может предотвращать развитие дефицита синаптической пластичности у взрослых особей [10]. Таурин защищает от индуцированного свинцом дефицита долговременной потенциации в зубчатой извилине гиппокампа крыс, улучшая синаптическую пластичность и когнитивное развитие потомства [11].

Однако из известного не вытекает с очевидностью, что композицию на основе таурина и цинка можно использовать для нормализации уровней нейротрансмиттерных аминокислот в стриатуме при свинцовой интоксикации.

Приводим результаты экспериментов, подтверждающих возможность осуществления изобретения.

Эксперимент № 1 по изучению протекторного эффекта композиции был проведен на крысах-самках массой 250-300 г, которые были разделены на три группы: первая группа животных получала раствор ацетата свинца (1,5 мг/л по иону свинца) в качестве единственного источника жидкости для питья на протяжении 30 сут, животные второй группы получали ацетат свинца на протяжении 30 сут, после чего крысы на протяжении 10 дней получали исследуемую композицию (1 г/л), животные контрольной группы получали воду. На 40-й день животные были декапитированы.

После месячной свинцовой интоксикации в стриатуме крыс наблюдалось изменение уровней нейроактивных аминокислот, причем все изменения кроме концентрации α -аминомасляной кислоты и таурина происходили в сторону уменьшения: снижались уровни β -аминомасляной кислоты, цистатинина, цистеиновой кислоты и 1-метилгистидина и предшественника серотонина - триптофана, кроме того снижался как суммарный уровень аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), так и уровни валина, лейцина и изолейцина.

Последующее введение композиции на основе таурина и цинка в соотношении 4:1 приводило к нормализации как суммарного содержания АРУЦ, так и каждого из их компонентов. Кроме того, введение препарата нормализовало уровни триптофана, метилгистидина, и не смотря на то, что в таурин входит состав препарата, его введение возвращало

ВУ 19622 С1 2015.10.30

к контрольным значениям как уровень самого таурина, так и содержание его непосредственного предшественника - цистеиновой кислоты. Кроме того, нормализовалось суммарное содержание серосодержащих и непротеиногенных аминокислот и соотношение глутамат/глутамин, которое было повышено у животных, получавших свинец. Помимо этого, у данных животных заметно возросли уровни нейротрансмиттерной γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и предшественника катехоламинов тирозина (табл. 1).

Таблица 1

Содержание нейроактивных аминокислот в стриатуме крыс (нмоль/г ткани), получавших ацетат свинца и исследуемую композицию совместно и отдельно на протяжении месяца (представлены только достоверно значимые различия), М±m

Аминокислоты, нмоль/г	Контроль	Ацетат свинца	Ацетат свинца + препарат
Таурин	5660±153	6442±137*	6167±352
β -аминомасляная кислота	9,6±0,71	7,32±0,58*	5,66±0,26*
ГАМК	2094±63,4	226993,2	2433±128*
Тирозин	47,6±3,87	58,5±4,95	70,3±1,92*
α -аминомасляная кислота	5,53±0,79	20,5±2,95*	17,1±0,53*
Валин	117±5,84	76,3±3,47*	103±9,39
Цистатионин	55,5±6,58	32,7±1,78*	29,5±4,51*
Триптофан	18,6±1,13	14,4±0,72*	16,8±0,20
Изолейцин	64,2±3,51	40,9±2,11*	53,3±3,02
Лейцин	135±15,1	85,9±6,61*	98,9±10,4
Цистеиновая кислота	25,5±5,07	11,9±0,91*	18,4±1,91
1-метилгистидин	7,65±1,09	3,60±0,28*	4,89±0,68
Незаменимые аминокислоты (%)	4,77±0,20	4,21±0,12*	4,03±0,24
Заменимые аминокислоты (%)	95,2±0,20	95,8±0,12*	96,0±0,24
Заменимые аминокислоты /незаменимые аминокислоты	20,2±0,78	22,9±0,66*	24,1±1,49*
АРУЦ	316±22,9	203±11,8*	255±22,0
АРУЦ (%)	1,04±0,08	0,65±0,04*	0,81±0,07
АРУЦ % от незаменимых аминокислот	21,7±1,04	15,5±0,90*	20,0±0,87
Ароматические аминокислоты % от незаменимых	9,49±0,58	10,1±0,67	11,8±0,85*
Непротеиногенные аминокислоты	10337±229	11258±210*	11120±452
АРУЦ/ААК	2,31±0,08	1,55±0,09*	1,72±0,13*
Фен/Тир	1,96±0,20	1,32±0,17*	1,12±0,08*
Глу/Гли	1,45±0,04	1,64±0,09*	1,50±0,07
Сумма серосодержащих аминокислот	5787±153	6533±138*	6257±355
Тормозные аминокислоты (Гли + ГАМК + Тау)	8655±176	9537±173*	9415±353

Примечание: в этой и других таблицах * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Эксперимент № 2. Использовались крысы-самцы массой 150-200 г. Первой группе животных внутрижелудочно вводили ацетат свинца в дозе 75 мг/кг на первый и на пятый день, а также воду на протяжении 10 дней эксперимента. Животным второй группы аналогичным образом вводили ацетат свинца, вместо воды вводили исследуемую композицию в дозе 100 мг/кг. На 10-й день эксперимента животных декапитировали. В обоих экспериментах после резки препарировали отделы головного мозга (стриатум, гипотала-

ВУ 19622 С1 2015.10.30

мус, средний мозг, кора больших полушарий) и методом ВЭЖХ определяли концентрации свободных аминокислот и их метаболитов.

Двукратное введение ацетата свинца на протяжении 10 дней вызывало рост уровней возбуждающей аминокислоты глутамата, цитруллина, аланина и гидроксипролина, и снижение концентрации глутамина. Среди показателей, характеризующих фонд свободных аминокислот, наблюдался рост процентного содержания заменимых и снижение незаменимых аминокислот, а также рост взаимоотношения заменимых к незаменимым аминокислотам и соотношения глутамат/глутамин, кроме того, наблюдалось увеличение суммарного содержания возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот.

Коррекция препаратом приводила к нормализации уровней глутамина, цитруллина, аланина и гидроксипролина, а также росту уровня лизина и снижению содержания α -аминоадипиновой кислоты. Применение композиции нормализовало соотношение и содержание незаменимых и заменимых аминокислот, а также уровень протеиногенных аминокислот (табл. 2).

Таблица 2

Содержание свободных аминокислот в стриатуме крыс (нмоль/г ткани), получавших ацетат свинца и исследуемую композицию совместно и отдельно на протяжении 10 дней (представлены только достоверные изменения), $M \pm m$

Показатели, нмоль/г	Контроль	Ацетат свинца	Ацетат свинца + препарат
Глутамат	12266 \pm 454	14471 \pm 414*	13631 \pm 308*
Глутамин	1712 \pm 71	1321 \pm 69*	1582 \pm 758
Цитруллин	57,5 \pm 2,6	69 \pm 2,4*	52,2 \pm 3,5
Аланин	908 \pm 39	1027 \pm 27*	912 \pm 22
Гидроксипролин	22,7 \pm 1	30,8 \pm 3*	22,6 \pm 1,6
Лизин	180 \pm 14	191 \pm 8	243 \pm 26*
α -аминоадипиновая кислота	13 \pm 0,6	12,2 \pm 0,6	9,4 \pm 0,8*
Незаменимые аминокислоты (%)	3,45 \pm 0,24	2,71 \pm 0,12*	3,08 \pm 0,28
Заменимые аминокислоты	21781 \pm 531	23773 \pm 546*	23163 \pm 941
Заменимые аминокислоты /незаменимые аминокислоты	15,8 \pm 1,3	20,2 \pm 0,9*	18,1 \pm 1,5
Протеиногенные аминокислоты	23203 \pm 545	24961 \pm 552*	24497 \pm 1060
Глу/Глн	7,29 \pm 0,54	11,07 \pm 0,44*	14,49 \pm 2,60*
Возбуждающие аминокислоты (Глу + Асп)	15485 \pm 503	17888 \pm 483*	17139 \pm 427*

Таким образом, применение композиции на основе таурина и цинка аспарагината в соотношении 4:1 в экспериментах с хронической с субхронической интоксикацией свинцом приводило к нормализации большинства из изменившихся уровней нейроактивных аминокислот в стриатуме крыс, кроме того, наличие изменений некоторых аминокислот при совместном введении свинца и препарата позволяет говорить о модулирующем действии исследуемой композиции.

Источники информации:

1. Abdollahi M., Rahmat-Jirdeh N., Soltaninejad K. Protection by selenium of lead-acetate-induced alterations on rat submandibular gland function // *Hum Exp Toxicol.* - 2001. - Vol. 20. - No. 1. - P. 28-33.
2. Basha M.R. et al. Lead-induced developmental perturbations in hippocampal Spl DNA-binding Are prevented by zinc supplementation: in vivo evidence for Pb and Zn competition // *Int. J. Devi. Neuroscience.* - 2003. - Vol. 21. - P. 1-12.
3. Satija N.K., Vij A.G. Preventive action of zinc against lead toxicity // *Indian J. Physiol. Pharmacol.* - 1995. - Vol. 39- No. 4. - P. 377-382.
4. Chen T. et al. Protective effect of C(60) -methionine derivate on lead-exposed human SH-SY5Y neuroblastoma cells // *J Appl Toxicol.* - 2011. - Vol. 31. - No. 3. - P. 255-61.
5. Chichovska M., Anguelov A. Study on the influence of L-lysine and zinc administration during exposure to lead and ethanol in rats // *Vet. Arhiv.* - 2006. - Vol. 76. --P. 65-73.
6. Gurer H., Ozgimes H., Saygin E., Ercal N. H. Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Arch Environ Contain // Toxicol.* - 2001. -Vol.41. - No. 4. - P. 397-402.
7. Masso-Gonzalez E.L., Antonio-Garcia M.T. Natural antioxidants protect against lead-induced damage during pregnancy and lactation in rat's pups // *Ecotoxicol Environ Saf.* - 2009. - Vol. 72. - No. 8. - P. 2137-42.
8. McGowan C. Influence of vitamin B6 status on aspects of lead poisoning in rats // *Toxicol Lett.* - 1989. - Vol. 47. - No. 1. - P - 87-93.
9. Piao F. et al. Effects of Zinc Coadministration on Lead Toxicities in Rats // *Industrial Health.* - 2007. - Vol. 45. - P. 546-551.
10. Rafique M., Pervez S., Tahir F. Protective effect of zinc over lead toxicity on testes. // *J. Coll. Physicians Surg. Pak.* - 2010. - Vol. 20. - No. 6. - P. 377-381.
11. Shan-Shan Yu et al. Influences of different developmental periods of taurine supplements on synaptic plasticity in hippocampal CA1 area of rats following prenatal and perinatal lead exposure // *BMC Developmental Biology.* - 2007. - Vol. 7. - P.51.
12. Zhu D.M. et al. Protection by a taurine supplemented diet from lead-induced deficits of long-term potentiation/depotentiation in dentate gyms of rats in vivo // *Neuroscience.* - 2005. - Vol. 134. - No. 1. - P. 215-224.