

УДК 577.24: 577.25: 591.481.1

ОСОБЛИВОСТІ КОМБІНОВАНОГО ВПЛИВУ ПІРАЦЕТАМУ, ЦЕРЕБРАЛУ ТА ВЕРАПАМІЛУ НА ДЕГЕНЕРАТИВНІ ПРОЦЕСИ В МОЗКУ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

О.Л. ПЛАХТА, Д.В. МАКСИМІВ, О.М. МАКАРЕНКО

Львівський національний університет імені Івана Франка,
Україна, 79005, м. Львів, вул.Грушевського, 4,
e-mail: maksimiv@gmail.com

*Вікові нейродегенеративні порушення у людини характеризуються пізнім проявом, швидким прогресуванням і часто закінчуються смертю. Лікування нейропатологій є актуальною проблемою в наш час, вирішення якої залежить від проведення модельних досліджень. Нейродегенеративні мутанти дрозофіли виступають адекватною моделлю для вивчення нейродегенеративних процесів у людини. Нами досліджено комбінований вплив фармакологічних препаратів та засобів: пірацетаму, церебралу та верапамілу на дегенеративні зміни в мозку *Drosophila melanogaster*. Виявлено, що застосування комбінації пірацетам + церебрал + верапаміл продовжує життя комах на 10–23%, а також відтерміновує нейродегенеративні процеси в мозку мутантів до 17-20 дня життя імаго залежно від генотипу. Механізм дії даної комбінації препаратів у нейродегенеративних мутантів полягає, в основному, у зниженні концентрації внутрішньоклітинного кальцію на 20–45% порівняно з контролем.*

Ключові слова: нейродегенерація, пірацетам, церебрал, верапаміл, дрозофіла.

Вступ. Нейродегенеративні порушення (НДП) займають одне з перших місць серед інших поширених захворювань центральної нервової системи (ЦНС). Велика частина нейропатологій визначається на генетичному рівні і часто є наслідком мутацій в генах, що беруть участь у детермінації, диференціації та функціонуванні нейронів [1, 2, 3]. Нейрони безхребетних пошкоджуються також через аномальні внутрішньоклітинні процеси, порушення міжклітинних взаємодій, в результаті дії екстремальних факторів і гинуть подібно до спеціалізованих нейронів людини [4]. Таким чином, методи молекулярної генетики безхребетних можуть бути використані для перевірки гіпотез стосовно патогенезу нейродегенеративних захворювань і пошуку лікарських засобів — супресорів та індукторів нейродегенерацій. Одним із всебічно вивчених еукаріотичних модельних об'єктів генетики є *D. melanogaster*, яка

© О.Л. ПЛАХТА, Д.В. МАКСИМІВ, О.М. МАКАРЕНКО, 2008

володіє значною подібністю (70%) до структури і функції генів, що включені у процеси диференціації та розвитку нейронів у людини [5, 6]. Описано [7] велику кількість нейродегенеративних мутантів (НДМ) *D. melanogaster*, в нейронах яких розвиваються зміни, аналогічні тим, що ідентифікуються при нейропатологіях у людини.

З іншого боку, незважаючи на велику кількість препаратів та біологічно активних речовин, які використовуються у клінічній неврології [1, 8], проблема лікування нейродегенеративних захворювань залишається відкритою. Саме тому в останні роки звертається особлива увага на використання комбінованого впливу лікарських препаратів різного напрямку фармакологічної дії. Зокрема, найпершим і найважливішим кроком у лікуванні НДП є зупинка процесів відмирання нейронів, тобто *нейропротекція*. Основними відомими нейропротекторами на цей час є: арісепт, церебралізін, окситоцин, пірацетам [9]. Наступним етапом розробленого нами [10, 11] комбінованого підходу є *нейроактивація*, тобто відновлення енергетичного обміну і стимуляція регенерації структурних компонентів пошкоджених нейронів, що веде до утворення нових нейрональних зв'язків [12]. В якості нейроактиваторів нами були використані адреналін, церебрал, адемент. Завершальним етапом цієї схеми виступає *нейроретардація*, яка супроводжується зупинкою надмірного спраутингу нейронів, що досягається завдяки використанню антагоністів Ca^{+2} каналів (верапамілу, мемантину, німотопу) [13, 14]. Така схема комбінованого впливу фармакологічних препаратів була апробована на НДМ *D. melanogaster* [10, 11] і виявилася достатньо ефективною: відтерміновувалася поява нейродегенеративних змін у

мозку комах і зростала тривалість життя особин.

Метою даної роботи стало дослідження комбінованого впливу пірацетаму, церебралу та верапамілу на процеси нейродегенерації, тривалість життя та кальцієвий гомеостаз у нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на чотирьох лініях нейродегенеративних мутантів по Х-хромосомі (*sws*, 76-15, 2-14, 61-7), які характеризувалися вкороченою тривалістю життя та наявністю НДП у клітинних структурах головного мозку. Фенотипово нейродегенеративні зміни у мутантів проявлялись у вигляді вакуолей, прогалин, отворів різного розміру, які пронизували тканину головного мозку [7]. Контролем слугувала лінія дикого типу Oregon R.

Класичним нейропротектором є пірацетам (ноотропіл) — 2-оксо-1-піролідинацетимід [1, 9] з групи ноотропів. Відомі дві основні особливості дії пірацетаму: нейрональна – нейропротекція і судинна – покращення мозкового кровообігу. Засіб змінює швидкість проходження процесів збудження у мозку, покращує нейрональну пластичність і метаболізм, сприяючи активації синтезу ДНК, фосфоліпідів та ряду кіназ у нейронах. Препарат зменшує агрегацію тромбоцитів, а при порушенні еластичності цитомембран еритроцитів покращує їх здатність до зміни форми і проходження по судинах мозку. Пірацетам долає гематоенцефалітний і плацентарний бар'єри, характеризується високою ефективністю при лікуванні нервових розладів у людей і дослідних тварин із експериментальною патологією [15].

В якості нейроактиватора застосовували церебрал — екстракт водороз-

чинних молекул, виділених з цереброкортексу тварин, які успішно перенесли геморагічний інсульт [16, 17]. Після моделювання геморагічного інсульту у тварин відбуваються активні регенеративні та репаративні процеси, стимулюється ріст нейритів та синапсоутворення. Церебрал, проявляючи свою дію, підсилює синтез NGF (фактор росту нейронів) і виявляє модулюючі впливи на імунну систему в експерименті [12, 17]. Це один із механізмів його антиінсультної дії, через який відбувається призупинення розвитку нейродегенеративних процесів. Активна фракція церебралу містить пептиди з молекулярною масою 350–500 Д [1].

Один із найбільш вивчених антагоністів Ca^{+2} -каналів — верапамілу гідрохлорид (верапаміл) слугував у нашій роботі в якості нейроретардатора [15]. Препарат використовується не лише у неврології, а й у кардіології, оскільки володіє здатністю нормалізувати порушення серцевого ритму. Верапаміл зменшує потік іонів Ca^{+2} через повільні специфічні канали. Внаслідок зменшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{+2} нормалізується швидкість розщеплення АТФ, тонус гладкої мускулатури судин зменшується.

Верапаміл викликає розширення артерій, сприяє активному кровопостачанню мозку, тобто володіє властивостями судинних препаратів. Він захищає нейрони при гіпоксії [14, 15, 19].

В роботі ми використовували фармакологічні засоби у концентраціях, які розраховували, виходячи з рекомендованої максимальної добової дози засобу на 1 кг ваги пацієнта в перерахунку на кількість поживного середовища: пірацетам — 0,085 мл/100мл середовища, церебрал — 3,6 мг/100мл середовища, верапаміл — 0,28 мл/100мл середовища. Фармакологічні препарати вводилися згідно з наведеною схемою (рис. 1). У всіх експериментах контролем служила дистильована вода. Проводили затравку личинок пірацетамом, після вилуплення п'ятиденних імаго переносили на нове середовище з додаванням церебралу, а на 10-ий день після вильоту імаго – на середовище з верапамілом. Через кожні 3 дні рахували кількість особин, які вижили. На основі отриманих числових даних визначали основні параметри тривалості життя, будували криві виживання досліджуваних ліній мух.

Гістологічні препарати головного мозку готували за стандартною методикою [19]. Для цього досліджуваних

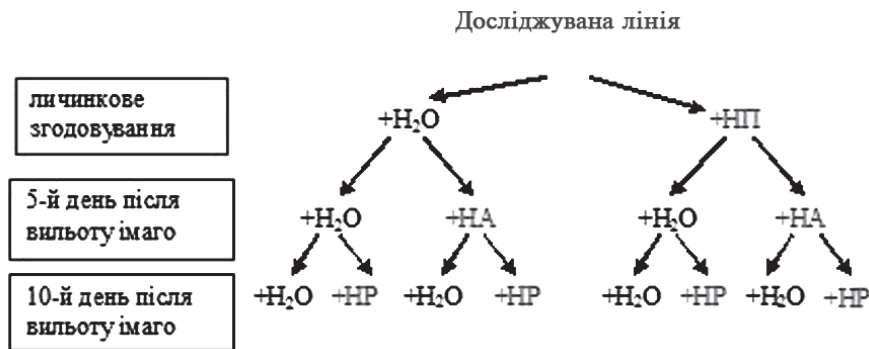


Рис. 1. Схема дослідження комбінованого впливу фармакологічних засобів на мутантів *D. melanogaster*. НП – нейропротектор, НА – нейроактиватор, НР – нейроретардатор

особин фіксували у розчині Карнуа, що складався із етанолу, хлороформу і оцтової кислоти у співвідношенні 6:3:1. Далі проводили дегідратацію і відмивання об'єктів у спиртах з наступною фіксацією у парафінах. З парафінових блоків безпосередньо виготовляли гістологічні зрізи мозку дрозофіли товщиною 7 мкм, які переносили на желатинізовані предметні скельця, їх висушували при t 37 °С і відмивали ксилолом від парафіну. Готові препарати аналізували в ультрафіолетовому світлі на мікроскопі Laboval-3 (Carl Zeiss Jena) при збільшенні (15 × 40). Гістологічні препарати зрізів мозку аналізували на 5-й, 10-й та 15-й день після вильоту імаго.

Визначення концентрації Ca^{+2} у гомогенаті головного мозку *D. melanogaster* проводили з використанням стандартного набору реактивів фірми "Simko – Ltd" (м. Львів). Принцип методу полягає у здатності іонів Ca^{+2} утворювати з арсеназо III комплекс синього кольору. Інтенсивність забарвлення даного комплексу, яка була еквівалентною концентрації Ca^{+2} у пробі, вимірювали за допомогою спектрофотометра СФ26 при довжині хвилі $\lambda = 590$ нм. Нагромадження Ca^{+2} тканиною мозку виражали в наномолях у перерахунку на сиру вагу.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням комп'ютерної програми Excel, визначаючи загальноновживані статистичні показники кількісних даних – середнє арифметичне (M), стандартну похибку середнього арифметичного (m). Для оцінки достовірності отриманих даних вираховували коефіцієнт Стьюдента (t), при цьому достовірною вважалася різниця при показнику достовірності $p \leq 0,05$, що відповідає коефіцієнту Стьюдента $t \geq 2,3$.

Результати та обговорення

Старіння у *D. melanogaster* в нормі починається після 20-ти днів життя імаго [7]. У досліджуваних мутантів поява нейродегенерації спостерігається у різні терміни. У мух лінії sws вакуолі різного розміру розкидані по всій мозковій тканині і виявляються вже на перший день після вильоту імаго. Фенотип особин лінії 76-15 проявляється у вигляді губчастоподібної структури мозку з третього дня життя дорослих особин. У імаго ліній 2-14 та 61-7 на третій день з'являються зміни у вигляді отворів і плям різного розміру по всій структурі головного мозку [7]. У табл. 1. представлені результати дії фармакологічних засобів на НДМ. Без впливу препаратів мутантний фенотип у всіх досліджуваних ліній мутантів проявляється вже до 5-го дня життя імаго, а при застосуванні нейропротектора пірацетаму нейродегенерація у ліній sws, 76-15 та 61-7 на 5-й день виявляється лише у вигляді початкових змін в структурах мозку. Аналіз гістологічних зрізів головного мозку 10-денних мух показав, що при використанні лише церебралу або пірацетаму і церебралу в особин ліній 76-15 та 2-14 мозкова тканина залишається повністю неушкодженою. Лінії sws та 61-7 характеризуються появою початкових змін тканини мозку. На нашу думку, більш високою ефективністю з двох препаратів володіє церебрал. Аналіз зрізів мозку 15-денних мух проводили після впливу трьох препаратів у різних комбінаціях. Як видно з табл. 1, у мутантів без використання фармакологічних засобів спостерігається прогресуюча динаміка нейродегенеративних процесів.

Поодинокі окреме використання пірацетаму, церебралу чи верапамілу відтермінує появу нейродегенерації

Таблиця 1. Фенотиповий прояв НДП у тканині мозку мутантів *D. melanogaster* під час поодинокого та поетапного впливу фармакологічних засобів

Лінія	5-й день		10-й день				15-й день							
	+H ₂ O	+П	+H ₂ O+H ₂ O	+H ₂ O+П	+H ₂ O+Ц	+П+Ц	+H ₂ O+H ₂ O+H ₂ O	+H ₂ O+H ₂ O+П	+H ₂ O+H ₂ O+Ц	+H ₂ O+H ₂ O+В	+H ₂ O+П+Ц	+H ₂ O+П+В	+H ₂ O+Ц+В	+П+Ц+В
Oregon	N	N54	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
sws	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N	N	M	N
76-15	M	M	M	M	N	N	M	M	M	M	M	M	N	N
61-7	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N
2-14	M	M	M	M	N	N	M	M	M	M	N	M	M	N

Примітка: N — нормальний фенотип мозкової тканини, M — мутантний фенотип; П — пірацетам, Ц — церебрал, В — верапаміл.

Таблиця 2. Фенотиповий прояв НДП у тканині мозку мутантів *D. melanogaster* в пізньому онтогенезі після комбінованого впливу фармакологічних засобів

Лінія	17 день		20 день		25 день		30 день	
	+П+Ц+В	+H ₂ O+H ₂ O+H ₂ O	+П+Ц+В	+H ₂ O+H ₂ O	+П+Ц+В	+H ₂ O+H ₂ O+H ₂ O	+П+Ц+В	+H ₂ O+H ₂ O+H ₂ O
or	N	N	N	N	N	N	N	N
sws	N	M	M	M	M	M	M	M
76-15	N	M	N	M	M	M	M	M
61-7	N	M	M	M	M	M	M	M
2-14	N	M	M	M	M	M	M	M

* Позначення, як в табл. 1.

у комах більшості досліджуваних ліній. Їх фенотип характеризується лише незначними початковими змінами нервової тканини. Використання комбінації нейропротектор + нейроактиватор є більш ефективним, ніж поодинокий варіант застосування засобів. Проте абсолютне відновлення фенотипу тканини мозку до нормального у 15-денних імаго спостерігається лише у випадку використання засобів з різним механізмом дії за трьохетапною схемою: нейропротектор (пірацетам) + нейроактиватор (церебрал) + нейроретардатор (верапаміл).

Ефективність дії трьохетапної схеми була прослідкована на гістологічних

зрізах 17-, 20-, 25- і 30-денних мух. Контролем слугували мухи з НДП, які на етапах дослідження утримувались на стандартному середовищі з додаванням води (табл.2). Починаючи з 17-го дня життя особин в контролі, спостерігається прогресуюча нейродегенерація. Структура мозкової тканини є пориста з чітко вираженими отворами. Такий дегенеративний фенотип мутантів, що використовувався як контроль, залишається аж до 30 дня життя комах. В той же час у 17-денних імаго після впливу трьох препаратів фенотип досліджуваних нами мутантів залишається аналогічним інтактному дикому типу (табл. 2). Лише з 20-го дня

структура головного мозку мутантів починає руйнуватись, а прогресуюча нейродегенерація з'являється на 25-й день життя досліджуваних імаго.

В роботах багатьох дослідників [2, 4] було показано, що активне функціонування нервової системи відіграє важливу роль в регуляції процесів старіння, при цьому тривалість життя більшості нейронів корелює із тривалістю життя цілісного організму. Для встановлення кількісних характеристик впливу досліджуваних препаратів за трьохетапну схему ми побудували криві виживання комах досліджуваних ліній після комбінованого впливу фармакологічних засобів (рис. 2). Як і в попередній серії дослідів, контрольним особинам у поживне середовище вносили воду. Найдовшу тривалість життя серед досліджуваних ліній має дикий тип Oregon в середньому 62 дні. Максимальна тривалість життя ліній нейродегенеративних мутантів становить 40–50 днів, тобто в середньому на 20% менша за норму. За даними літератури [7, 8], вкорочена тривалість життя НДМ може бути наслідком порушення процесів метаболізму в організмі комах, а також того, що у мутантів в процесі дегенерації відмирають певні групи нейронів, які виконують життєво важливі функції.

Аналізуючи поетапний вплив досліджуваних фармакологічних засобів на виживання мух (рис. 2), можна бачити, що параметри тривалості життя НДМ в результаті фармакокорекції є продовженими на 15–23% порівняно з контрольними НДМ. Особливу ефективність трьохетапного підходу виявлено щодо лінії *sws*: тривалість життя цих мутантів після застосування пірацетаму, церебралу та верапамілу збільшується на 23% порівняно з контрольними. Незважаючи на позитив-

ний терапевтичний ефект комбінованого впливу фармакологічних засобів тривалість життя мутантів є до 10% вкороченою порівняно з диким типом. Слід зауважити, що досліджувані фармакологічні препарати також суттєво не впливають на характер відмирання особин молодого віку, а найбільший ефект здійснюють на останньому етапі життя особин – під час старіння (від 25-го дня життя імаго).

Ці результати можуть свідчити про можливість блокади дегенеративних процесів у особин середнього віку і під час старіння мутантів за рахунок нормалізації метаболічних процесів у нервовій системі комах на даних етапах життя.

У мух з НДП роль Ca^{+2} іонів в діяльності нервової системи є надзвичайно важливою. Іони Ca^{+2} поступають із позаклітинного середовища через відповідні іонні канали і запускають або модулюють багато клітинних процесів: проведення нервового імпульсу, підтримання електричного трансмембранного потенціалу, здійснення рецептор-ефекторних реакцій, підтримання оптимального рівня нейропластичності нейронів (здатності до адаптації шляхом активації росту дендритів, утворення нових синаптичних зв'язків) [13, 18]. Підтримання фізіологічного балансу зовнішньо- та внутрішньоклітинної концентрацій Ca^{+2} забезпечує ефективне функціонування нейронів. Баланс зумовлюється транспортом даних іонів за допомогою потенціалзалежних каналів L-типу, що реагують на зміни електричного потенціалу мембрани та рецептор-керованих каналів NMDA. Останні активуються збудливими нейромедіаторами (зокрема глутаматом), концентрація якого є підвищеною у людей з захворюваннями нервової системи та при старінні. Внаслідок

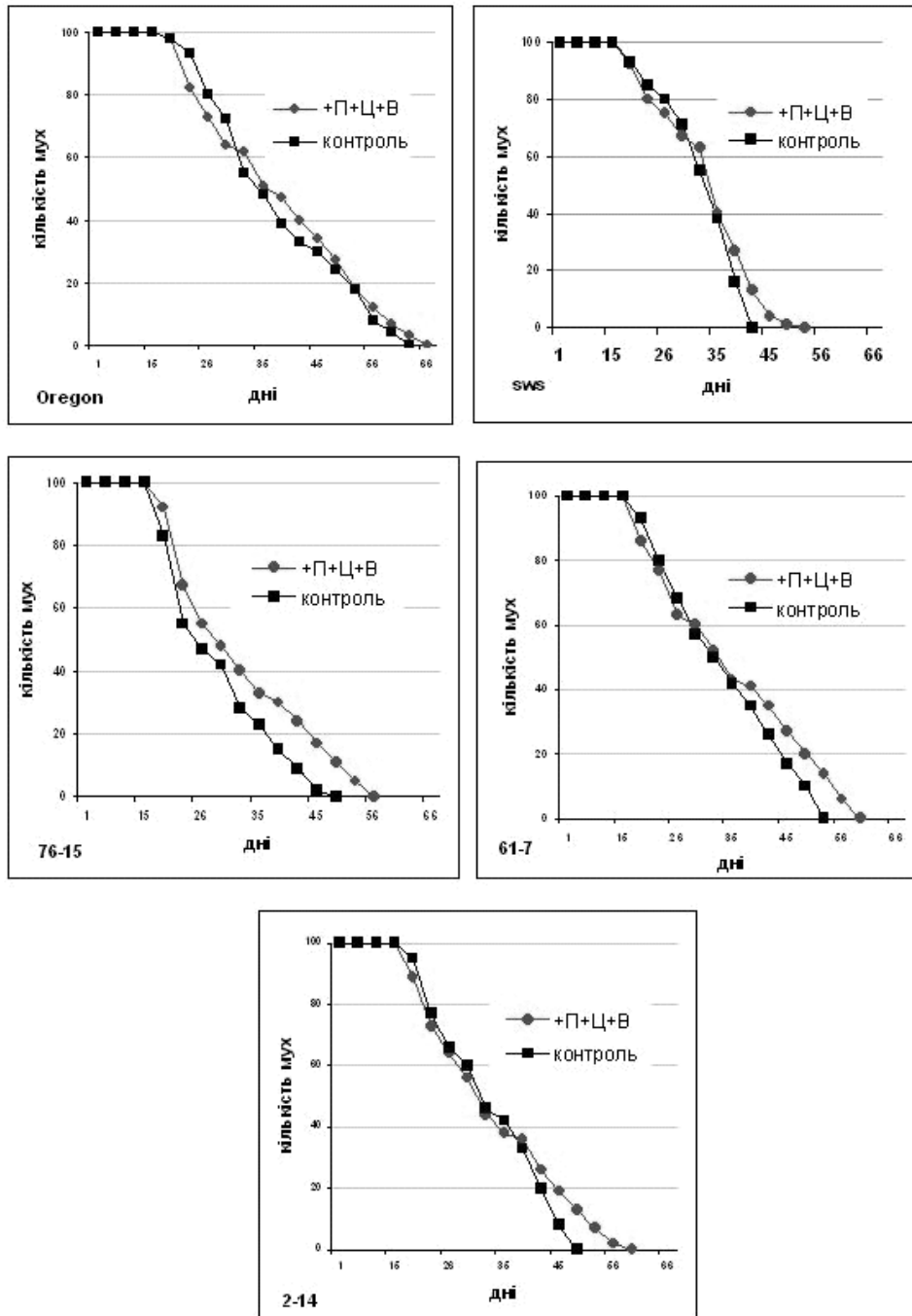


Рис. 2. Криві виживання комах ліній *Drosophila melanogaste* після комбінованого впливу пірацетаму (П), церебралу (Ц) і верапамілу (В)

активації процесів перекисного окислення ліпідів відбувається руйнування фосfolіпідного шару мембран нервових клітин [1, 2, 13]. Збільшення внутрішньоклітинної нейрональної концентрації Ca^{+2} іонів веде до порушення гомеостазу клітин, наслідком чого є зміна синтезу і секреції нейромедіаторів, активація процесів апоптозу і загибелі нейронів.

Враховуючи, що порушення обміну Ca^{+2} іонів у нейронах характерне для багатьох нейродегенеративних процесів, в тому числі при патологічному старінні мозку людей похилого віку (при хворобі Альцгеймера), ми досліджували вплив фармакологічної блокади верапамілом надлишкового транспорту цих іонів через цитомембрану на внутрішньоклітинний кальцієвий гомеостаз та на розвиток НДП у мух.

Результати дослідження комбінованого впливу пірацетаму, церебралу та верапамілу на внутрішньонейрональний кальцієвий гомеостаз НДМ дрозофіли представлені на рис. 3. На початку дослідження концентрація внутрішньоклітинного кальцію у мух дикого типу і у нейродегенеративних мутантів зростає з віком. В той же час у досліджуваних НДМ вона перевищує норму на 17–25%, визначену у молодих комах. Різке збільшення концентрації внутрішньоклітинних Ca^{+2} іонів (на 40–50%) у НДМ спостерігається на 10–12 день життя імаго. Зростання концентрації іонів кальцію корелює із початком прогресування нейродегенерації з 10–12 дня життя мутантів. Після комбінованого застосування пірацетаму, церебралу та верапамілу концентрація внутрішньоклітинних Ca^{+2} іонів у 1–3-денних, 5–7-денних НДМ зменшується на 7–11% відповідно. Найбільший ефект спостерігається у 10–12-денних НДМ. У них після застосування

зазначених засобів концентрація внутрішньоклітинного кальцію зменшується на 35–45% і максимально наближається до відповідних показників лінії дикого типу. Останні результати також пояснюються доцільністю використання верапамілу в якості нейроретардатора. Даний фармакологічний препарат характеризується швидким впливом на зміну кінетики кальцієвих каналів: зменшуючи деполяризуючі потоки, які викликані входженням Ca^{+2} в негативно заряджену цитоплазму, верапаміл нормалізує тонус мозкових судин та гомеостаз нейронів [14, 18].

Таким чином, отримані результати свідчать про високу терапевтичну активність не окремих досліджуваних засобів, але і їх комбінованого впливу. Ми виявили, що при поодинокому введенні препаратів, а також при комбінації двох препаратів: нейропротектор + нейроактиватор, нейропротектор + нейроретардатор, нейроактиватор + нейроретардатор на 15-й день життя імаго проявляється мутантний фенотип. І лише при трьохетапному застосуванні препаратів поява нейродегенеративних змін у мозку мутантів з різним генотипом відтермінується до 17–19 дня життя імаго, а показники тривалості життя збільшуються на 15–23%. Показано, що внутрішньоклітинна концентрація Ca^{+2} іонів у нейродегенеративних мутантів на 17–50% вища за норму. Терапевтична ефективність комбінації пірацетам + церебрал + верапаміл пояснюється зменшенням концентрації іонів внутрішньоклітинного кальцію у нейродегенеративних мутантів на 20–45% порівняно з контролем, що затримує розвиток нейродегенеративних процесів. Результати проведених досліджень підтверджують думку про можливість лікування нейродегенеративних захво-

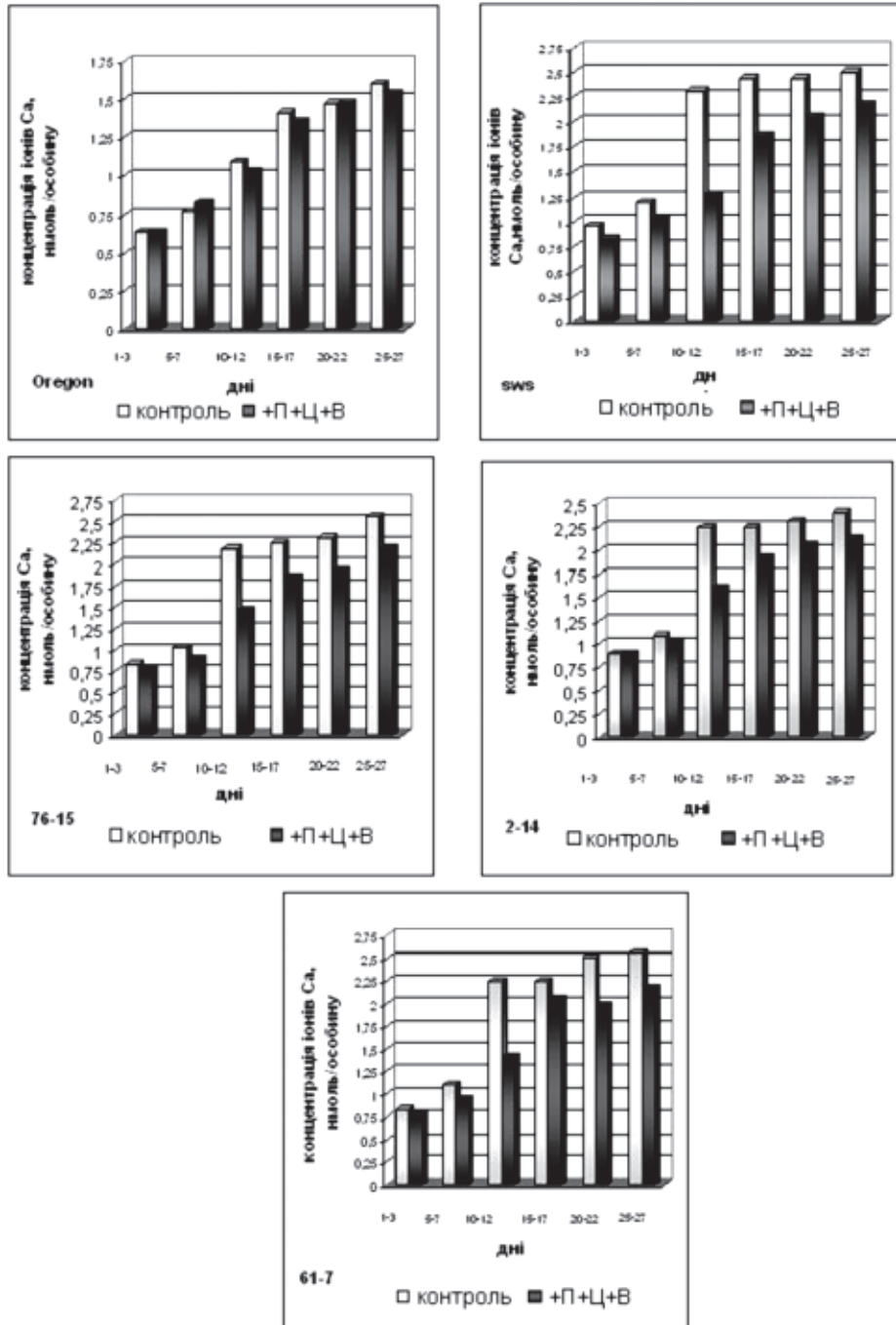


Рис. 3. Вплив комбінованого застосування пірацетаму (П), церебралу (Ц) та верапамілу (В) на внутрішньоклітинний кальцевий гомеостаз у мутантів *D. melanogaster*

рювань за розробленою схемою: нейропротекція+нейроактивація +нейроретардація, але цей висновок потребує проведення відповідних клінічних досліджень.

Представлено І.Р. Баріляком
Надійшла 4.02.2008

Перелік літератури

1. Яхно Н., Преображенская И. Болезнь Альцгеймера: патогенез, клиника, лечение // РМЖ. — 2002.—10, №25. — С. 2–14.
2. Fanh S. and Sulzer D. Neurodegeneration and neuroprotection in Parkinson Disease // The J. Amer. Society for Experim. NeuroTherapeutics. — 2004. — 1. — P. 139-154.
3. Hurlley St.,Hardy J. Neurodegeneraiton Experimental Therapeutics of neurodegenerative Disorders // Science — 1998. — 282. — P. 171-183.
4. Driscoll M., Garstbrein B. Dying for a cause: invertebrate genetics takes on human neurodegeneration // Genetics. — 2003. — 4.— P. 181–194.
5. Higgins L., Cordell. Genetically engineered animal models of human neurodegenerative disease // Neurodegeneration. — 1995. — 4. — P. 117–129.
6. Greenspan R. Fly pushing. The theory and practice of Drosophila genetics // Cold Spring harbor Lab. Press., NY, USA. — 1997. — P. 23-46.
7. Щербата Г., Матийцив Н., Черник Я., Яценко А., Радыш В., Кучеренко М., Максимів Д. Генетический анализ нейродегенеративных мутантов *Drosophila melanogaster* по X-хромосоме, индуцированных этилметансульфонатом и нитрозоэтилмочевинной // Генетика. — 2004. — 40, №9. — С. 1286-1292.
8. Максимів М., Радиш В., Кучеренко М., Черник Я., Щербата Г. Дослідження впливу фармакологічних препаратів різних напрямків дії на динаміку розвитку нейродегенерації у *Drosophila melanogaster* // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. — 2003. — Вип. 34. — С. 108-114.
9. Bullock R. New drugs for Alzheimer's disease and other dementions // Br. J. Psychiatry. — 2002. — 180. — P. 135-139.
10. Радиш В., Ступницька І., Кучеренко М., Плахта О., Макаренко О., Гасуль Е., Максимів Д., Черник Я. Вплив препарату Адемент і його низькомолекулярних фракцій на розвиток нейродегенеративних процесів у мутантів *Drosophila melanogaster* // Цит. и генет. — 2005. — 39, № 4. — С. 45-52.
11. Радыш В.В., Максимив Д.В., Макаренко А.Н. Комплексное влияние фармакологических веществ на дегенеративные процессы в мозге мутантов *Drosophila melanogaster* // Экспер. и клинич. фармакол. — 2006. — 69, №5. — С. 16-19.
12. Макаренко А.Н., Васильева И.Г., Чоплик Н.Г. Нейроактивирующий молекулярный механизм действия факторов синтеза секреции ФРН при остром геморрагическом инсульте // Трансплантология. — 2002. — 3, № 2. — С. 69-74.
13. Bronstein-Sitton N. Ca⁺²-dependent K⁺ (K, Ca) channels: at the crossroads cell metabolism // Modulator. — 2005. — № 5. — P. 10-14.
14. Echiren H., Eichelbaum M. Clinical pharmacokinetics of verapamil, nifedipine and diltiazem // Clin.Pharmacocinetics. — 1986. — 11. — P. 425-449.
15. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Медицина. — 1999. — 1. — С. 732.
16. Макаренко А.Н., Васильева И.Г., Чоплик Н.Г. и др. Влияние активной фракции препарата "Церебрал" на уровень экспрессии каспазы-3 и белка предшественника b-амилоида при лечении геморрагического инсульта в остром и отдаленном периодах // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2005. — 139, № 2. — С. 175-177.
17. Аркадьев В.Г., Макаренко А.Н., Новик Л.В., Пустоваров А.Ю, Максимов Ю.Н. Влияние церебрала – перспективного антиинсультного средства на иммунную систему при геморрагическом инсульте // Экспер. и клин. фармакол. — 2002. — 65, № 2. — С. 20-23.
18. Meir A. Voltage dependent Ca⁺² (Ca_v)

channels // Modulator. – 2005. — №20. — Р. 2–6.

19. Ashburner M. *Drosophila*. NY, USA: Cold Spring harbor Univ. Press. — 1989. — 1. — P.1331.

ОСОБЕННОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ВЛИЯНИЯ ПИРАЦЕТАМА, ЦЕРЕБРАЛА И ВЕРАПАМИЛА НА ДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МОЗГЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

О.Л. Плахта, Д.В. Максимів,
А.М. Макаренко

Львовский национальный университет имени Ивана Франко
Украина, 79005, г. Львов, ул. Грушевского, 4,
e-mail: maksimiv@mail.ru

Возрастные нейродегенеративные нарушения у людей характеризуются поздним проявлением, быстрым прогрессированием и часто оканчиваются смертью. Лечение нейропатологий является актуальной проблемой в наше время, решение которой зависит и от проведения модельных исследований. Нейродегенеративные мутанты дрозофилы выступают адекватной моделью для изучения этих процессов у человека. Нами исследовано комбинированное влияние фармакологических препаратов и средств: пирацетама, церебрала и верапамила на дегенеративные изменения в мозге *Drosophila melanogaster*. Выявлено, что при совместном влиянии этих препаратов нейродегенеративные процессы в мозге мутантов отодвигаются до 17–20 дня жизни имаго. Показано, что использование комбинации пирацетам + церебрал + верапамил продлевает жизнь насекомых на 10–23% в зависимости от генотипа мутантов. Механизм действия

данной комбинации у нейродегенеративных мутантов заключается в снижении концентрации внутриклеточного кальция на 20–45% по сравнению с контролем.

Ключевые слова: нейродегенерация, пирацетам, церебрал, верапамил, дрозофила.

INVESTIGATION OF COMBINE INFLUENCE OF PIRACETAM, CEREBRAL AND VERAPAMIL ON THE DEGENERATIVE PROCESSES IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* BRAIN

O.L. Plachta, D.V. Maksymiv,
A.N. Makarenko

Ivan Franko National University of L'viv,
Hrushevsky st. 4
L'viv 79005, Ukraine,
e-mail: maksimiv@mail.ru

Various human neurodegenerative disorders are characterized by late onset, relentless progression and finally death. The neurodegenerative diseases treatment is actual problem nowadays. *D. melanogaster* neurodegenerative mutants are a good model for human neurodegeneration investigation. It was explored combine influence of pharmacological drugs piracetam, cerebral and verapamil on the degenerative processes in *Drosophila melanogaster* brain. We detected that share influence of this drugs delay changes in neurodegenerative mutants brain by 17-20 days. It was shown that piracetam, cerebral and verapamil combine influence enlarge mean lifetime by 10-23% depending of mutants genotype. Share combination influences decreases intracellular Ca^{+2} ions concentration by 20-45% comparatively control in neurodegenerative mutants.

Key words: neurodegeneration, piracetam, cerebral, verapamil, drosophila.