

генотипов *CC* и *TT*:  $p < 0,0001$ ,  $\chi^2 = 22,022$ ,  $RR = 0,3119$ , 95% ID: 0,1880 to 0,5176.

В результате проведенного исследования выявлена ассоциация между полиморфным маркером *C3435T* гена *MDR1* и развитием ОИМ: 1. Генотип *TT* является фактором риска, предрасполагающим к развитию ОИМ у больных ИБС:  $p = 0,0043$ ,  $\chi^2 = 8,171$ ,  $RR = 2,262$ , 95% ID: 1,402 to 3,648). 2. Риск возникновения ОИМ у больных ИБС достоверно меньше среди носителей генотипа *CT* по сравнению с лицами-носителями генотипов *CC* и *TT*:  $p < 0,0001$ ,  $\chi^2 = 22,022$ ,  $RR = 0,3119$ , 95% ID: 0,1880 to 0,5176. Т.е. носительство генотипа *CT* является протективным в отношении риска развития ОИМ у больных ИБС. 3. Аллель *T* и/или *C* полиморфного маркера *C3435T* гена *MDR1* не ассоциированы с развитием ОИМ у больных ИБС ( $p = 0,402$ ,  $\chi^2 = 0,7022$ ).

### Выводы

Таким образом, предположение о том, что экспрессия гена *MDR1*, кодирующего гликопротеин P, может оказывать влияние на риск развития ИБС, а носительство генотипов полиморфного маркера *C3435T* данного гена может влиять на различный характер ее течения, нашло свое подтверждение в проведенном исследовании. Выявлен еще один генетический фактор предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

## Polymorphism in MDR1 gene and the risk of acute myocardial infarction development

O.V. Muslimova, D.A. Sichev, E.V. Shikh, R.E. Kosakov

The article is devoted to possibility of early forecasting of Coronary Heart Disease (CHD) failures by using the innovative methods of diagnostics revealing genetic distinctions between people. In this research focus is revealing of the genotype of patients with CHD on *C3435T* polymorphism in *MDR1* gene, expressing

### Список литературы

1. **Кукес В.Г.** Клиническая фармакология. Москва, Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». 2008. 1056 с.
2. **Flens M.J., Zaman G.J., van der Valk P., Izquierdo M.A., Schroeijers A.B., Scheffer G.L., van der Groep P., de Haas M., Meijer C.J., Scheper R.** Tissue distribution of the multidrug resistance protein. *J. Am J Pathol.* 1996. Apr;148(4):1237-47.
3. **Laguens R.P., Lazarowski A.J., Cuniberti L.A., Vera Janavel G.L., Cabeza Meckert P.M., Yannarelli G.G., del Valle H.F., Lascano E.C., Negroni J.A., Crottogini A.J.J.** Expression of the MDR-1 gene-encoded P-glycoprotein in cardiomyocytes of conscious sheep undergoing acute myocardial ischemia followed by reperfusion *Histochem Cytochem.* 2007. Feb;55(2):191-7. Epub. 2006. Nov 13.
4. **Robertson S.J., Kania K.D., Hladky S.B., Barrand MAJ.** P-glycoprotein expression in immortalised rat brain endothelial cells: comparisons following exogenously applied hydrogen peroxide and after hypoxia-reoxygenation. *Neurochem.* 2009. Oct;111(1):132-41. Epub. 2009. Jul 25.
5. **Uhr M., Holsboer E., Müller M.B.** Penetration of endogenous steroid hormones corticosterone, cortisol, aldosterone and progesterone into the brain is enhanced in mice deficient for both *mdr1a* and *mdr1b* P-glycoproteins. *J Neuroendocrinol.* 2002. Sep;14(9):753-9.

glycoprotein P, by PCR-PLRF. The association between carriers of genotypes of the given polymorphism and risk of development of acute myocardial infarction is revealed for the first time. Revealing of the genotype is considered from the point of view of modern principles of the personalized medicine for the purpose of an individualization of approaches to preventive maintenance and treatment of diseases.

**Key words:** genetic polymorphism, MDR1, polymorphic marker *C3435T*, glycoprotein P, CHD, acute myocardial infarction, aldosterone.

## Условия хромато-масс-спектрометрического определения десмопрессина в биологических образцах

Нгуен Чи Тхань

Первый МГМУ им. Сеченова, Москва

Контактная информация: Нгуен Чи Тхань E-mail: elmed@yandex.ru

Хроматографическое разделение проводили при постоянной температуре 30°C на колонке Phenomenex Luna C18. При хромато-масс-спектрометрическом анализе ионизация осуществлялась электрораспылением при атмосферном давлении в режиме регистрации положительных ионов. Детектирование проводилось в режиме регистрации селективных реакций (SRM). Извлечение десмопрессина из биологических образцов плазмы человека проводили методом твердофазной экстракции. Предел детектирования десмопрессина в плазме человека составил 1,0 пг/мл, а предел количественного определения десмопрессина в плазме человека – 2,0 пг/мл.

**Ключевые слова:** десмопрессин, ВЭЖХ.

В 1974 г. был создан синтетический аналог природного аргинин вазопрессина – десмопрессин (1-деаино-8-D-агинин вазопрессин), специфический агонист рецепторов V2. Десмопрессин получен в результате изменений в строении молекулы вазопрессина – дезаминирование 1-цистеина и замещение 8-L-аргинина на 8-D-аргинин.

В 1977 г. после клинических испытаний, выполненных в Италии, десмопрессин стал использоваться во многих других странах, и Всемирная организация здравоохранения включила этот препарат в список основных лекарственных средств для лечения больных гемофилии и болезнью Виллебранда, наиболее рас-

пространенных нарушений свертываемости крови. Несмотря на 20 лет клинического использования десмопрессина, механизмы действия все еще не полностью исследованы.

**Целью** настоящего исследования явились разработка метода экстракции и количественного определения изучаемого препарата в плазме крови человека.

Хроматографическое разделение проводили при постоянной температуре 30°C на колонке Phenomenex Luna C18 (150×2 мм, размер частиц – 5 мкм, размер пор – 100 Å) фирмы «Phenomenex» (Torrance, CA, США). В качестве мобильной фазы использовали 0,05% раствор муравьиной кислоты (pH=3) (А) и

90% раствор метанола (В). Постоянная скорость потока составляла 0,2 мл/мин. ВЭЖХ-МС анализ проводился в режиме градиентного элюирования: 0 мин. – (В) 40%; 8 мин. – (В) 90%; 9 мин. – (В) 90%; 12 мин. – (В) 40%; 18 мин. – (В) 40%; общее время анализа составляло 18 мин.

При хромато-масс-спектрометрическом анализе ионизация осуществлялась электрораспылением при атмосферном давлении в режиме регистрации положительных ионов. Напряжение на капилляре – 4,0 кВ; температура капилляра – 245°C; скорость потока, осушающего газа (азот) – 0,45 л/мин.; скорость потока газа (аргон) в камере соударения – 0,075 л/мин.; температура в камере ионизации – 200°C; давление на распылителе – 2,0 атм.

Детектирование проводилось в режиме регистрации селективных реакций (SRM).

Извлечение десмопрессина из биологических образцов плазмы человека проводили методом твердофазной экстракции. Твердофазную экстракцию осуществляли на колонках Strata-X 8B-S100-TAK C18-E (33 мкм, 30 мг) фирмы «Phenomenex» (Torrance, CA, США). Кондиционирование колонки проводили путем последовательного пропускания через нее 3,0 мл метано-

ла с последующим кондиционированием 3,0 мл 0,1 М фосфатного буферного раствора (рН= 6,0). Далее через колонку медленно (1-2 мл/мин) пропускали образец плазмы, затем колонку промывали 3,0 мл воды деионизованной со скоростью 3-5 мл/мин. и подкисляли 2,0 мл 1М раствора уксусной кислоты. После колонку просушивали в токе азота при 20 psi в течение 2 мин. Далее через колонку последовательно пропускали 3,0 мл гексана и 1,7 мл смеси, состоящей из метилхлорида, изопропилового спирта и гидроксида аммония (78:20:2) со скоростью 3-5 мл/мин.

Элюирование десмопрессина проводили 1,7 мл смеси гексан-этилацетат (1:1) при скорости потока 1-2 мл/мин. Собранный элюат высушивали в токе азота при комнатной температуре и перерастворяли в 100 мкл подвижной фазы. Образец объемом 50 мкл вводили в ВЭЖХ-МС систему.

Предел детектирования десмопрессина в плазме человека составил 1,0 пг/мл, а предел количественного определения десмопрессина в плазме человека – 2,0 пг/мл.

Таким образом, подобраны условия хромато-масс-спектрометрического определения десмопрессина в плазме крови человека.

## Determination of concentration in biological samples desmopressin with a method for LC/MS

Nguyen Chi Thanh

Chromatographic separation was performed at a constant temperature of 30°C on a column Phenomenex Luna C18. With gas chromatography-mass spectrometry analysis was carried out electrospray ionization at atmospheric pressure in the learning mode of positive ions. Detection was carried out in the learning mode selective reactions (SRM). Extraction of desmopressin from biological samples of human plasma was performed by solid-phase extraction. Detection limit of desmopressin in human plasma was 1,0 pg/ml and limit of quantification in human plasma desmopressin – 2,0 pg/ml.

**Key words:** desmopressin, method for LC/MS.

## Фармакологическая коррекция метаболического пути L-аргинин/eNOS/NO

М.В. Покровский<sup>2</sup>, М.В. Корокин<sup>2</sup>, Т.Г. Покровская<sup>2</sup>, Л.В. Корокина<sup>2</sup>, Е.Н. Пашин<sup>1</sup>, О.С. Гудырев<sup>2</sup>, А.П. Григоренко<sup>2</sup>, Ю.А. Хощенко<sup>2</sup>, Т.П. Голивец<sup>2</sup>, В.В. Гуреев<sup>1</sup>, В.И. Кочкаров<sup>2</sup>, А.В. Файтельсон<sup>1</sup>, А.А. Арустамова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – Курский государственный медицинский университет, Курск

<sup>2</sup> – Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

Контактная информация: Покровский Михаил Владимирович [mpokrovskiy@yandex.ru](mailto:mpokrovskiy@yandex.ru)

Проведено изучение возможности коррекции метаболического пути L-аргинин/eNOS/NO при L-NAME-индуцированной ADMA-ассоциированной эндотелиальной дисфункции с помощью внутрибрюшинного введения тетрагидробиоптерина (BH4) в дозе 10 мг/кг, L-аргинина в дозе 200 мг/кг, L-норвалина в дозе 10 мг/кг и комбинаций L-аргинина с BH4 и L-норвалином. Выявлено, что исследованные препараты по отдельности, оказывая эндотелиопротективное действие при ADMA-ассоциированной патологии, и при сочетанном применении проявляют положительное фармакодинамическое взаимодействие.

**Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, тетрагидробиоптерин, L-аргинин, L-норвалин, ADMA.

Появление в последние годы понятий «эндогенного ингибирования» эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и «разобщение eNOS» привело к интенсификации исследований, направленных на предотвращение указанных процессов, как ключевых звеньев в коррекции эндотелиальной дисфункции. При этом на ключевую роль в регуляции функции eNOS выдвигается кофактор птерина – тетрагидробиоптерин (BH4) [2, 3]. Для обеспечения оптимальной активности eNOS предложены две стратегии – экзогенное введение L-аргинина и L-норвалина [4] для преодоления ингибирования e-NOS и тетрагидробиоптерина (BH4) – для преодоления разобщения e-NOS.

### Материалы и методы

Опыты проводились на белых крысах-самцах линии Wistar массой 200-250 г.

Блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин-метиловый эфир (L-NAME) вводился внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг/сут., один раз в сутки, в течение семи дней. Животные были разделены на группы (n=10): 1-я – интактные; 2-я – с введением L-NAME; 3-я – L-NAME + L-аргинин (200 мг/кг/сут. внутрибрюшинно 7 дней); 4-я – L-NAME+L-норвалин (10 мг/кг/сут. внутривенно 7 дней); 5-я – L-NAME+BH4 (10 мг/кг/сут. внутрибрюшинно 7 дней); 6-я – L-NAME+ L-аргинин 200 мг/кг + BH4 10 мг/кг в течение семи дней; 7-я – L-NAME+L-аргинин 200 мг/кг + L-норвалин 10 мг/кг в течение семи дней.

На 8-й день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД), болюсное введение фармакологических агентов