

УДК 577.152.1.086.6:615.254.1.015.4]-092.9

УГНЕТЕНИЕ МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ОСЛАБЛЯЕТ ДИУРЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ГИСТОХРОМА У КРЫС

Талалаева О.С.¹, Жариков А.Ю.¹, Зверев Я.Ф.¹, Федорев С.А.²,
Брюханов В.М.¹, Лампатов В.В.¹

¹ Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

² Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова, г. Владивосток

РЕЗЮМЕ

Гистохром – это лекарственная форма эхинохрома (2, 3, 5, 6, 8-пентагидрокси-7-этил-1,4-нафтохинон). Возникшие в процессе клинического применения препарата вопросы относительно его биотрансформации предопределили цель данного исследования – изучить участие монооксигеназной системы печени в обеспечении фармакологической активности гистохрома.

Простым и информативным методом прижизненного контроля влияния монооксигеназной системы печени на метаболизм лекарственного средства является оценка изменений фармакологического эффекта исследуемого препарата на фоне ингибитора микросомального окисления. В экспериментах на крысах изучено влияние хлорамфеникола на диуретический эффект гистохрома как наиболее удобный для скрининга.

Контрольной группе животных (15 крыс) подкожно вводили гистохром в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 10 сут. Опытная группа крыс (16 животных) за 3 ч до введения гистохрома перорально получала хлорамфеникол в дозе 50 мг/кг массы тела. В обеих исследуемых группах каждые 2 сут измеряли объем суточного диуреза, экскрецию креатинина (ммоль/сут) и экскрецию ионов Na⁺ и K⁺ (мкмоль/сут). До введения препаратов у животных оценивали базальный уровень показателей экскреторной функции почек.

Длительное применение гистохрома сопровождалось пятикратным увеличением диуреза и параллельным ростом экскреции креатинина. Выделение ионов натрия статистически значимо возрастало на 11-е сут эксперимента, а калия – начиная с 9-х сут введения гистохрома. В условиях превентивного применения хлорамфеникола объем суточного диуреза и экскреция креатинина оказались значительно ниже контрольных показателей. Выделение с мочой ионов натрия уменьшилось почти в 2 раза по сравнению со значениями, зафиксированными при введении гистохрома. Экскреция ионов калия соответствовала исходному уровню на протяжении всего периода наблюдения.

Учитывая, что хлорамфеникол является мощным ингибитором микросомального окисления в печени, логично предположить, что ослабление экскреторной функции почек связано с угнетением метаболизма эхинохрома, а мочегонный эффект препарата обусловлен не столько нативным соединением, сколько продуктами его метаболизма. Скорее всего, метаболит эхинохрома повышает скорость клубочковой фильтрации, обеспечивая диуретическую реакцию препарата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гистохром, хлорамфеникол, микросомальное окисление.

Введение

Отечественные лекарственные препараты серии «Гистохром» созданы на основе морского природного соединения эхинохрома (2,3,5,6,8-пентагидрокси-7-этил-1,4-нафтохинон), хиноидного пигмента морских

беспозвоночных [1–3]. Разработанный сотрудниками Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН гистохром является мощным антиоксидантом и не имеет аналогов в мире [1].

Клинические исследования гистохрома и дальнейший опыт его применения в практической медицине показали высокую эффективность препарата в комплексной терапии острого инфаркта миокарда [2].

✉ Талалаева Ольга Сергеевна, тел. 8 (3852) 26-08-29, 8-913-234-4186; e-mail: talalaeva_olga@mail.ru

В офтальмологической практике гистохром нашел применение при лечении заболеваний, связанных с кровоизлияниями в стекловидное тело и сетчатку, дегенеративными и дистрофическими заболеваниями роговой, сосудистой и сетчатой оболочек глаза [3]. Кроме того, экспериментально показано, что препарат обладает диуретическим и противовоспалительным эффектами [4–6]. Учитывая, что спектр биологической активности спинохромов весьма широк, изучение фармакодинамики гистохрома представляется перспективным направлением.

Объясним интерес и к фармакокинетике препарата. Необходимо отметить, что, несмотря на более чем десятилетнее применение гистохрома, его биотрансформация до настоящего времени остается практически неизученной. Вопросы, касающиеся особенностей метаболизма гистохрома, возникшие в процессе его клинического применения, во многом предопределили направление представленных исследований. Прежде всего необходимо было выяснить, участвуют ли ферментные системы гепатоцитов в биотрансформации препарата.

Цель работы – изучить возможное участие монооксигеназной системы печени в обеспечении фармакологической активности гистохрома.

Материал и методы

В экспериментах использовали препарат «Гистохром, раствор для внутривенного введения 1%-й» (Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, г. Владивосток).

Простым и информативным методом прижизненного контроля влияния монооксигеназной системы печени на метаболизм лекарственных средств является оценка характера изменений фармакологического эффекта исследуемого препарата под действием индукторов и (или) ингибиторов микросомального окисления печени [7]. Из всех известных фармакологических эффектов гистохрома для исследований было выбрано мочегонное действие препарата как наиболее удобное для скрининга.

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой тела 200–250 г. На протяжении всего эксперимента животные находились в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи, в условиях постоянной диеты. Прием воды и пищи не ограничивался. Животные были разделены на две группы по 20 крыс в каждой, у которых до введения препаратов оценивали базальный уровень показателей экскреторной функции почек. На основании

полученных данных из исходного количества крыс для эксперимента выбрали 15 и 16 особей. Контрольной группе крыс (15 животных) подкожно вводили гистохром в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 10 дней. Вторая группа животных (16 крыс) за 3 ч до введения гистохрома перорально получала хлорамфеникол в дозе 50 мг/кг массы тела на протяжении всего курса введения гистохрома.

Через 24 ч после введения гистохрома у животных собирали мочу, измеряя объем суточного диуреза. В собранной моче методом пламенной фотометрии определяли содержание ионов натрия и калия, рассчитывая суточную экскрецию этих ионов (ммоль/сут). Экскрецию креатинина (ммоль/сут) как показателя, характеризующего скорость клубочковой фильтрации, оценивали фотоколориметрическим способом, основанным на фотометрической реакции с пикриновой кислотой (реакция Яффе) по модифицированной методике Поппера [5, 8, 9].

Эксперименты выполняли с соблюдением требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000).

Полученные в каждой группе подопытных крыс результаты сравнивали с соответствующими базальными значениями. Кроме того, проводили сравнение показателей между опытной и контрольной группами животных. Статистическую обработку проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего; выборка n и p – достигнутый уровень значимости. При расчетах использовали программы Statistica 6.0 for Windows.

Результаты

Ранее было установлено, что 10-дневное введение крысам гистохрома в дозе 10 мг/кг массы тела существенно увеличивает уровень мочеотделения [4, 5]. При этом прирост суточного диуреза сопровождался аналогичной динамикой экскреции креатинина (табл. 1). Обнаружено, что на 5-е сут эксперимента объем мочеотделения у подопытных животных возрастал более чем в 3 раза, а экскреция с мочой креатинина увеличивалась в 3,5 раза. Максимальная диуретическая реакция отмечалась на 7-е сут введения гистохрома, когда было зафиксировано почти пятикратное увеличение суточного диуреза. Экскреция креатинина в этот период времени также достигала пиковых значений, превышая исходные значения почти в 6 раз.

Таблица 1

Влияние длительного введения (10 сут) гистохрома (10 мг/кг массы тела подкожно) на функцию почек у крыс (n = 15)						
Показатель	Базальные значения	Период введения препарата, сут				Через сутки после отмены препаратов
		3-и	5-е	7-е	9-е	
Диурез, мл/сут	2,90 ± 0,40	6,10 ± 1,03	10,40 ± 1,88*	14,10 ± 2,17*	12,10 ± 1,57*	10,60 ± 1,65*
Экскреция Na ⁺ , мкмоль/сут	38,00 ± 3,20	31,00 ± 2,93	33,00 ± 4,07	45,00 ± 4,27	57,00 ± 11,70	75,00 ± 12,62*
Экскреция K ⁺ , мкмоль/сут	496,00 ± 32,10	464,00 ± 65,50	492,00 ± 42,80	571,00 ± 53,60	797,00 ± 59,30*	870,00 ± 66,30*
Экскреция креатинина, ммоль/сут	3,30 ± 0,34	2,30 ± 0,28	9,20 ± 1,20*	18,60 ± 2,24*	12,70 ± 2,71*	10,95 ± 1,95*

* Статистически значимые изменения в сравнении с базальными значениями ($p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние длительного введения (10 сут) гистохрома (10 мг/кг массы тела подкожно) на фоне хлорамфеникола (50 мг/кг массы тела) на функцию почек у крыс (n = 16)						
Показатель	Базальные значения	Период введения препарата, сут				Через сутки после отмены препаратов
		3-и	5-е	7-е	9-е	
Диурез, мл/сутки	3,10 ± 0,19	5,60 ± 0,66*	7,80 ± 0,71* [#]	7,60 ± 0,68* [#]	7,00 ± 0,75* [#]	6,70 ± 0,95*
Экскреция Na ⁺ , мкмоль/сут	39,00 ± 3,10	17,00 ± 1,95* [#]	18,00 ± 2,26* [#]	16,00 ± 1,81* [#]	25,00 ± 3,81* [#]	424,00 ± 29,48* [#]
Экскреция K ⁺ , мкмоль/сут	560,00 ± 26,50	575,00 ± 65,10	521,00 ± 34,16	622,00 ± 31,04	652,00 ± 59,04	563,00 ± 45,72
Экскреция креатинина, мкмоль/сут	4,00 ± 0,23	5,60 ± 0,41* [#]	6,30 ± 0,39*	7,00 ± 0,41* [#]	6,40 ± 0,63* [#]	6,90 ± 0,52*

* Статистически значимые изменения в сравнении с базальными значениями ($p < 0,05$).

[#] Статистически значимые изменения в сравнении с показателями у животных на фоне гистохрома ($p < 0,05$).

К 10-м сут применения гистохрома описываемые показатели стабилизировались на уровне несколько ниже пиковых значений. На 2-е сут после отмены препарата объем мочеотделения, сохраняясь на высоком уровне, превышал контрольные значения в 3,7 раза, а экскреция креатинина с мочой была почти в 5 раз выше исходной.

Выделение из организма электролитов изменялось не столь существенно. Так, достоверное увеличение экскреции натрия зафиксировано лишь на 11-е сут эксперимента. Статистически значимый рост экскреции ионов калия отмечался начиная с 9-х сут введения гистохрома (табл. 1).

Важно отметить, что в условиях превентивного введения хлорамфеникола диуретический эффект гистохрома оказался не столь выраженным (табл. 2). Если на 3-и сут совместного введения гистохрома и хлорамфеникола уровень мочеотделения превышал исходный почти вдвое, что примерно соответствовало эффекту одного гистохрома, то к 5-м сут картина существенно отличалась. В этот период диуретический эффект на фоне совместного введения препаратов достигал максимума, но его абсолютная величина существенно уступала показателям, зафиксированным при введении одного гистохрома. Отмеченное различие

сохранялось вплоть до окончания периода наблюдения, когда совместное применение гистохрома и хлорамфеникола превышало исходный уровень диуреза в 2,3 раза, тогда как один гистохром обеспечивал более чем четырехкратное увеличение этого показателя.

Как и в предыдущих экспериментах, динамика экскреции креатинина была сопоставима с изменениями уровня мочеотделения. Возрастая с (4,00 ± 0,23) до (5,60 ± 0,41) ммоль/сут ($p < 0,02$) через 3 сут введения гистохрома с хлорамфениколом, описываемый показатель сохранялся на том же уровне в течение всего эксперимента, достоверно превышая исходные значения. При этом на 3-и, 7-е и 9-е сут применения препаратов экскреция креатинина была достоверно ниже значений в группе животных, получавших только гистохром (табл. 2).

Превентивное введение хлорамфеникола крысам, получавшим гистохром, отразилось и на выделении с мочой электролитов (табл. 2). В этих экспериментальных условиях уже на 3-и сут наблюдения экскреция ионов натрия уменьшилась почти в 2 раза по сравнению со значениями, полученными в предыдущей серии экспериментов. Более того, описываемый показатель оказался даже статистически значимо ниже исходных значений. Аналогичная картина наблюдалась

в течение последующих 5 сут эксперимента, и лишь после отмены хлорамфеникола выделение натрия с мочой вновь увеличилось. Также отмечено, что на протяжении всего периода наблюдения выделение с мочой ионов калия соответствовало исходному уровню. Через 2 сут после отмены препаратов описываемый показатель оказался статистически значимо ниже такового у крыс, получавших гистохром (табл. 2).

Обсуждение

Изучение влияния длительного введения гистохрома на экскреторную функцию почек выявило выраженный мочегонный эффект препарата. При этом диуретическая активность гистохрома у крыс при длительном применении оказалась сопоставимой с действием терапевтических доз синтетических диуретиков тиазидинового ряда [4, 10]. Однако если синтетические мочегонные средства, являясь салуретиками, в первую очередь многократно повышают экскрецию натрия [10, 11], то в условиях применения гистохрома выделение этого электролита с мочой увеличивалось не столь существенно. Это может означать, что в отличие от синтетических диуретиков гистохром усиливает мочеотделение не за счет ингибирования реабсорбции натрия, а вследствие угнетения процесса всасывания воды. Кроме того, не подлежит сомнению и участие повышения скорости клубочковой фильтрации в обеспечении диуретического эффекта гистохрома, на что указывает сопряжение прироста диуреза и экскреции креатинина, наблюдавшееся с 5-х сут введения препарата. Важным положительным моментом является значительно меньшее в сравнении с салуретиками калийуретическое действие гистохрома.

Анализ показывает, что действие гистохрома на почки качественно напоминает эффект ряда мочегонных растений, но количественно его существенно превосходит.

Характер влияния хлорамфеникола на диуретический эффект гистохрома оказался несколько неожиданным. Результаты проведенных экспериментов показали, что мочегонное действие препарата при его длительном применении на фоне превентивного введения антибиотика не усиливается, а, наоборот, ослабевает. Учитывая, что хлорамфеникол является мощным ингибитором микросомального окисления в печени, логично предположить, что ослабление экскреторной функции почек связано с угнетением метаболизма гистохрома под действием антибиотика. Если это так, то представляется логичным, что кон-

центрация метаболитов эхинохрома в почечных канальцах уменьшается. Зафиксированное в эксперименте одновременное снижение объема суточного диуреза наводит на мысль, что мочегонный эффект гистохрома обусловлен не столько нативным препаратом, сколько его метаболитом или метаболитами. Следует заметить, что в этих экспериментальных условиях максимальный прирост суточного диуреза у крыс отмечался на 3-и сут введения гистохрома с хлорамфениколом. При этом описываемый показатель был сопоставим с диуретическим эффектом гистохрома. Вероятно, это обусловлено недостаточным угнетением ферментных систем печени после трехкратного введения хлорамфеникола. Стабилизация же суточного диуреза с 5-х сут эксперимента на уровне 7 мл/сут, по-видимому, связана с последующим стойким угнетением биотрансформации гистохрома в гепатоцитах.

Примечательно, что экскреция креатинина в обоих экспериментах изменялась параллельно с приростом суточного диуреза. Это указывает на то, что именно метаболит эхинохрома повышает скорость клубочковой фильтрации. И, наконец, снижение экскреции электролитов с мочой также может быть следствием угнетения метаболизма гистохрома в печени.

Здесь следует отметить, что важный путь угнетения метаболизма ряда экзогенных веществ хлорамфениколом заключается в истощении под действием антибиотика запасов глюкуроновой кислоты в гепатоцитах. Доказано, что после введения даже небольшой дозы хлорамфеникола ее концентрация в печени снижается более чем на 90%. Ясно, что в результате этого угнетается процесс глюкуронидации других эндо- и экзогенных соединений [9]. Кроме того, хлорамфеникол подавляет продукцию ферментов глюкуронидации в микросомах печени, ингибируя синтез белка на большой 50S-субъединице рибосом. Все вышесказанное наводит на мысль, что одним из метаболитов эхинохрома является его глюкуроновое производное.

Таким образом, полученные данные косвенно указывают, что гистохром подвергается биотрансформации в печени и образовавшиеся продукты его метаболизма обладают диуретической активностью. Давно известно, что многие лекарственные соединения приобретают либо изменяют свою фармакологическую активность в процессе биотрансформации в печени. Это явление широко используется в практической медицине. Более того, интерес к пролекарствам в последние годы резко возрос в связи с их многочисленными достоинствами. С этих позиций

дальнейшее изучение как фармакокинетики, так и метаболитов гистохрома приобретает важное практическое значение.

Заключение

Длительное введение гистохрома в дозе 10 мг/кг массы тела существенно увеличивает уровень мочеотделения у крыс. Выявленная в эксперименте сопряженность прироста диуреза и экскреции креатинина позволяет предположить, что диуретический эффект гистохрома обусловлен главным образом увеличением скорости клубочковой фильтрации.

В условиях предварительного введения хлорамфеникола мочегонный эффект гистохрома снижается. Это может означать, что эхинохром в обычных условиях метаболизируется в печени, а диуретическое действие препарата реализуется посредством его метаболитов.

Не исключено, что одним из метаболитов эхинохрома является его глюкуроновое производное, так как хорошо известно, что хлорамфеникол активно угнетает процесс глюкуронидации многих эндо- и экзогенных соединений.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-00770.

Литература

1. Мищенко Н.П., Федореев С.А., Догадова Л.П. Препарат «Гистохром» для офтальмологии // Вестник ДВО РАН. 2004. № 3. С. 111–119.
2. Пат. 2137472 РФ. Лекарственный препарат «Гистохром» для лечения острого инфаркта миокарда и ишемической
3. Пат. 2134107 РФ. Препарат «Гистохром» для лечения воспалительных заболеваний сетчатки и роговицы глаз / Еляков Г.Б., Максимов О.Б., Мищенко Н.П., Кольцова Е.А., Федореев С.А., Глебо Л.И., Красовская Н.П., Артюков А.А.; опубл. 20.09.99.
4. Пат. 2408367 РФ. Диуретическое средство / Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Федореев С.А., Мищенко Н.П.; опубл. 10.01.2011.
5. Талалаева О.С., Жариков А.Ю., Федореев С.А., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Мищенко Н.П., Лампатов В.В. Влияние гистохрома на экскреторную функцию почек в эксперименте // Бюл. сиб. медицины. 2011. Т. 10, № 5. С. 101–104.
6. Талалаева О.С. О взаимосвязи противовоспалительного и антиоксидантного эффектов гистохрома // Вестн. урал. мед. акад. науки. 2011. Т. 3, № 1. С. 48.
7. Регуляторы ферментативных систем детоксикации среди азотсодержащих соединений / А.С. Саратиков, Р.Р. Ахмеджанов, А.А. Бакибаев, А.И. Хлебников, Т.П. Новожеева, Е.Л. Быстрицкий. Томск: Сибирский издательский дом, 2002. 264 с.
8. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков Ю.А. Методические подходы к изучению функции почек в эксперименте на животных // Нефрология. 2009. Т. 13, № 3. С. 52–62.
9. Жариков А.Ю., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. Изменение фармакологической активности фуросемида на фоне хлорамфеникола в эксперименте // Нефрология. 2006. Т. 10, № 1. С. 67–71.
10. Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. Фармакология и клиническое использование экстраренального действия диуретиков. М.: Медицинская книга; Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2000. 256 с.
11. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф. Побочные эффекты современных диуретиков: метаболические и токсико-аллергические аспекты. Новосибирск: ЦЭРИС, 2003. 327 с.

Поступила в редакцию 10.07.2012 г.

Утверждена к печати 10.04.2013 г.

Талалаева Ольга Сергеевна (✉) – канд. мед. наук, преподаватель кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

Жариков Александр Юрьевич – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

Зверев Яков Федорович – д-р мед. наук, профессор кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

Федореев Сергей Александрович – д-р хим. наук, зав. лабораторией Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (г. Владивосток).

Брюханов Валерий Михайлович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

Лампатов Вячеслав Витальевич – д-р биол. наук, профессор кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

✉ **Талалаева Ольга Сергеевна**, тел. 8 (3852) 26-08-29, 8-913-234-4186; e-mail: talalaeva_olga@mail.ru

SUPPRESSION OF MICROSOMAL OXIDATION WEAKENS HISTOCHROME'S DIURETIC EFFECT AT RATS

Talalaeva O.S.¹, Zharikov A.Yu.¹, Zverev Ya.F.¹, Fedoreyev S.A.²,
Bryukhanov V.M.¹, Lampatov V.V.¹

¹ Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation

² Pacific Ocean Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS named after G.B. Yelyakov, Vladivostok, Russian Federation

ABSTRACT

Histochrome is the medicinal form of echinochrome (2, 3, 5, 6, 8-pentahydroxy-7-ethyl-1,4-naphthoquinone). Arisen during clinical application of the drug questions concerning its biotransformation have predetermined the aim of this research: to study participation liver monooxygenase system in maintenance of histochrome's pharmacological activity.

Simple and informative method of the lifetime control of liver monooxygenase systems influence on a metabolism of a medical product is the estimation of changes of pharmacological effect of a researched preparation on a background microsomal oxidations inhibitor. In experiments on rats chloramphenicol action on diuretic effect of histochrome, as the most convenient for screening, was investigated.

To control group of animals during 10 days were hypodermically entered by histochrome in a doze of 10 mg/kg (n = 15). Experimental animals preliminary oral received 50 mg/kg of chloramphenicol before three hours of histochrome introduction (n = 16). In both groups of animals measured volume daily excretion of water, creatinin, sodium and potassium ions excretions in experimental rats each two days. The initial level of parameters of excretory kidneys functions were estimated before introduction of preparations at animals.

Long-term histochrome's injection was followed by a fivefold increasing of water excretion and simultaneously creatinin growth one. Allocation of ions of sodium was statistically significantly increased by 11-th day of experiment, and potassium ions – since the ninth day of histochrome injection. In conditions preliminary chloramphenicol applications volume daily urine output and creatinin excretion were essentially less control parameters. Allocation with urine of ions of sodium was decreased almost twice in comparison with the values, fixed at introduction histochrome. Excretion potassium ions were corresponded to an initial level during all period of supervision.

Taking into account, that chloramphenicol is powerful inhibitor of microsomal oxidations in a liver, it was logical to assume, that excretion functions decrease of kidneys was connected to oppression of the echinochrome metabolism, and the diuretic effect of a preparation was caused not so much primary substance, how many of its metabolism products. Most likely, echinochrome metabolite raises speed glomerular filtrations, providing diuretic reaction of a preparation.

KEY WORDS: histochrome, chloramphenicol, microsomal oxidation.

Bulletin of Siberian Medicine, 2013, vol. 12, no. 3, pp. 69–75

References

1. Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Dogadova L.P. *Bulletin of FEB RAS*, 2004, no. 3, pp. 111–119 (in Russian).
2. Patent 2137472 RF. *Medical preparation «Histochrom» for treatment of a sharp heart attack of a myocardium and ischemic illness of heart*. Elyakov G.B., Maksimov O.B., Mishchenko N.P. etc.; published 20.09.1999 (in Russian).
3. Patent 2134107 RF. *Preparation "Histochrom" for treatment of inflammatory diseases of a retina and a cornea of eyes*. Yelyakov G.B., Maksimov O.B., Mishchenko N.P., Koltsova Ye.A., Fedoreyev S.A., Glebko L.I., Krasovskaya N.P., Artyukov A.A.; published 10.08.1999 (in Russian).
4. Patent 2408367 RF. *Diuretic medicine*. Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Fedoreyev S.A., Mishchenko N.P.; published 10.01.2011 (in Russian).
5. Talalaeva O.S., Zharikov A.Yu., Fedoreyev S.A., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Mishchenko N.P., Lampatov V.V. *Bulletin of Siberian Medicine*, 2011, vol. 10, no. 5, pp. 101–104 (in Russian).

6. Talalaeva O.S. Bull. *Ural Medical Academic Science*, 2011, vol. 3, no. 1. pp. 48 (in Russian).
7. Saratikov A.S., Achmedjanov R.R., Bakibaev A.A., Khlebnikov A.I., Novodjeeva T.P., Bistritskiy E.L. *Regulators enzyme detoxication systems among nitrogen containing substances*. Tomsk, Siberian Publishing House, 2002. 264 p. (in Russian).
8. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu. *Nephrology*, 2009, vol. 13, no. 3, pp. 52–62 (in Russian).
9. Zharikov A.Yu., Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V. *Nephrology*, 2006, vol. 10, no. 1, pp. 67–71 (in Russian).
10. Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M. *Pharmacology and clinical use extra renal diuretic actions*. Moscow, Medical book Publ., N. Novgorod, N. Novgorod State Medical Academy Publ., 2000. 256 p. (in Russian).
11. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F. *By-effects modern diuretics: metabolic and toxics and allergic aspects*. Novosibirsk, CERIS Publ., 2003. 327 p. (in Russian).

Talalaeva Olga S. (✉), Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.

Zharikov Aleksandr Yu., Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.

Zverev Yakov F., Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.

Fedoreyev Sergey A., Pacific Ocean Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS named after G.B. Yelyakov, Vladivostok, Russian Federation.

Bryukhanov Valery M., Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.

Lampatov Vyacheslav V., Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.

✉ **Talalaeva Olga S.**, Ph. +7 (3852) 26-08-29, +7-913-234-4186; e-mail: talalaeva_olga@mail.ru