

Влияние иммуномодулятора галавит на соматические последствия отмены хронического введения морфина¹

ПЕРЕГУД Д.И.
ОНУФРИЕВ М.В.

СТЕПАНИЧЕВ М.Ю.
ЯКОВЛЕВ А.А.
ЛАЗАРЕВА Н.А.
ПАВЛОВА Т.В.
БАРОНЕЦ В.Ю.
ЖИЛОВ В.Х.
ЖИЛОВА Л.Н.
ПАНЧЕНКО Л. Ф.
ГУЛЯЕВА Н. В.

аспирант Национального научного центра наркологии (ННЦН) МЗ РФ, Москва
к.б.н., с.н.с. лаборатории функциональной биохимии нервной системы
Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии (ИВНД и НФ) РАН, Москва
к.б.н., с.н.с. лаборатории функциональной биохимии нервной системы ИВНД и НФ РАН, Москва
аспирант Московского физико-технического института, Московская область, Долгопрудный
н.с. лаборатории функциональной биохимии нервной системы ИВНД и НФ РАН, Москва
аспирант ИВНД и НФ РАН, Москва
с.н.с. лаборатории биохимии ННЦН МЗ РФ, Москва
ген. директор ЗАО ЦСМ Медикор
зам. директора ЗАО ЦСМ Медикор
д.м.н., профессор, академик РАМН, рук. лаборатории биохимии ННЦН МЗ РФ, Москва
д.б.н., профессор, рук. лаборатории функциональной биохимии нервной системы ИВНД и НФ РАН

Исследовали влияние иммуномодулятора галавит на поведенческие признаки синдрома отмены морфина, показатели свободнорадикального гомеостаза и системы оксида азота в печени и тимусе крыс. Установили, что галавит купирует выраженность абстинентного синдрома. Сниженная при абстиненции масса тимуса под действием галавита достигает контрольных значений. Галавит нормализует активность аспартатами-нотрансферазы и гамма-глутамилтрансептидазы в сыворотке крови, а также некоторые показатели свободнорадикального гомеостаза в печени в условиях выраженного окислительного стресса, сопровождающего отмену морфина. Патологическое перераспределение активностей изоформ синтазы оксида азота (NOS) в печени при абстиненции успешно купируется галавитом. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования галавита в терапии опиоидного абстинентного синдрома.

Продолжительное употребление препаратов опиоидной группы приводит к развитию стойкой зависимости, как психической, так и физической. Помимо феномена фармакологической зависимости, хроническое введение опиатов сопровождается развитием соматической патологии, одними из проявлений которой является гепатотоксичность [1, 2] и иммунодефицит [2, 3].

Принято считать, что одним из определяющих механизмов гепатотоксичности препаратов опиоидной группы является развитие окислительного стресса [4, 5, 6]. Так, при хроническом введении опиатов развивается нарушение свободнорадикального гомеостаза печени, которое приводит к цитолизу и выходу в кровоток печеночных ферментов, что сопровождается увеличением активности сывороточных трансаминаз [7]. Развитие окислительного стресса в печени при хроническом введении опиатов связывают со снижением содержания низкомолекулярных антиоксидантов (глутатион, витамин Е) [5, 8], изменением активности антиоксидантных ферментов [9], накоплением свободнорадикальных метаболитов опиатов [10] и накоплением продуктов перекисного окисления [1, 4, 5, 6, 11]. Особое внимание исследователей привлекает оксид азота (NO), который является свободнорадикальной молекулой с широким спектром функций в печени в норме и при патологии [12]. Работы, посвященные метаболизму оксида азота в печени в условиях воздействия опиатов, ограничиваются исследованиями влияния однократной инъекции производных морфина на индуцированную липополисахаридом экспрессию индуцибельной синтазы оксида азота (иNOS) [13]. Кроме того, известно, что сво-

боднорадикальные молекулы играют определенную роль в функционировании клеток иммунной системы. Известно, что фагоцитарная активность клеток иммунной системы связана с синтезом таких биологически активных молекул как оксид азота (NO) и супероксидный анион-радикал. Кроме того, свободные радикалы способны выступать в качестве вторичных посредников при проведении внутриклеточного сигнала и таким образом участвуют в экспрессии генов в клетках иммунной системы [14]. Накоплен большой экспериментальный и клинический материал, свидетельствующий о развитии вторичного иммунодефицитного состояния как при хроническом введении опиатов, так и при абстинентном состоянии [2, 15]. В экспериментах на животных установлено, что введение опиатов сопровождается атрофией органов иммунной системы [16], нарушением фагоцитарной активности [17], синтеза антител и цитокинов [18].

С учетом вышесказанного, принципиально важна разработка препаратов с комбинированным действием, которые способны регулировать как свободнорадикальный гомеостаз, так и состояние иммунной системы у злоупотребляющих опиоидами. Отечественными специалистами был разработан препарат с иммуномодулирующими свойствами галавит. При клинических испытаниях эффективность использования галавита показана в комплексной терапии больных хроническими гнойно-воспалительными заболеваниями, рецидивирующей герпес-вирусной инфекции (HSV-2), заболеваний желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, неспецифический язвенный колит), кишечных инфекций, доброкачественной гиперплазии предстательной железы, больных диссеминированным и инфильтра-

¹ Работа поддержана грантом РГНФ 03-06-00146а

тивным туберкулезом легких на фоне противотуберкулезной терапии и т.д. [19]. Галавит является производным фталгидразида и представляет собой натриевой соли 5-амино-1,2,3,4-тетрагидрофалазин-1,4-диона дигидрат. Галавит обладает иммуномодулирующим и противовоспалительным действием. Его основные фармакологические эффекты, выявленные при проведении доклинических испытаний, обусловлены способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность макрофагов [19]. Кроме того, установлено, что галавит способен проявлять антиоксидантную активность [20].

Учитывая вышеизложенное, галавит можно считать перспективным препаратом для купирования окислительного стресса в печени и предотвращения атрофии тимуса при опиоидной абстиненции. Таким образом, целью настоящей работы явилось определение способности галавита влиять на показатели свободнорадикального гомеостаза и систему NO в печени и тимусе при экспериментальном синдроме отмены морфина.

Материал и методы исследования

В работе использовали 29 крыс-самцов Wistar в возрасте 6 мес массой 250–350 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. В ходе эксперимента были сформированы 4 группы животных: контрольная группа 1 ($n=7$; животные на протяжении всего эксперимента получали изотонический раствор хлорида натрия), опытная группа ($n=7$; животные, получавшие морфин в течение 6 дней), контрольная группа 2 ($n=7$; животные получали изотонический раствор хлорида натрия в течение 6 дней, затем трижды внутримышечно галавит в дозе 20 мг/кг), опытная группа + галавит ($n=8$; животные, получавшие морфин в течение 6 дней и в период отмены морфина галавит трижды внутримышечно 20 мг/кг).

Морфина гидрохлорид вводили внутривентриально в течение 6 дней 2 раза в сутки (в 10.00 и 20.00) в возрастающих дозах 10–100 мг/кг [21, 22]. Спонтанный абстинентный синдром оценивали через 36 ч после завершающей инъекции морфина в «открытом поле» (арена диаметром 120 см и высотой стенок 40 см). Выраженность абстинентного синдрома регистрировали в течение 5 мин по ряду специфических двигательных (отрахиивания «мокрой собаки», прыжковая активность, корчи, жевание, скрип зубами, встряхивание передними лапами) и вегетативных признаков (диарея, птоз, ринорея, пилоэрекция, диспноэ, писк при дотрагивании, агрессивность) [21, 23]. Если было возможно, наблюдаемые признаки регистрировали количественно с дальнейшим присвоением каждому признаку определенного балла. Выраженность абстинентного синдрома представляли в виде суммы баллов. Крыс декапитировали сразу после оценки синдрома отмены морфина. Для биохимических исследований использовали плазму крови, печень и тимус.

После декапитации крыс кровь из сонных артерий собирали в пробирки с раствором ЭДТА в качестве антикоагулянта, затем центрифугировали при 1500g 15 мин при 4 °C и полученную плазму, а также эритроцитарную массу аликвотировали и до исследования хранили при – 40 °C. Тимус сразу помещали в ледяной 0,9%-ный раствор хлорида натрия, удаляли кровеносные сосуды и соединительную ткань, затем замораживали в жидком азоте. Печень крыс перфузировали охлажденным изотоническим раствором хлорида натрия, после чего вынимали и замораживали в жидком азоте. До исследования все образцы хранили при – 40 °C.

Выделенные ткани гомогенизировали в 20 mM HEPES (pH 7,5) при 4 °C. Часть гомогенатов аликвотировали для определения сульфгидрильных групп (SH-групп) и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП). Оставшуюся часть гомогенатов центрифугировали 30 мин при 11000g при 4 °C, часть полученных супернатантов отбирали для определения NO_x- и активности супероксиддисмутазы (СОД). В оставшуюся часть добавляли охлажденный 20 mM HEPES (pH 7,5), содержащий 0,5 mM ЭДТА, 1 mM ДТТ, 1 mM фенилметилсульфонилфторид, апротинин и лейпептин по 5 мкг/мл. Супернатанты печени дополнительно центрифугировали 1 ч при 105000 g и 4 °C для получения цитозоля, в котором определяли активность NOC.

Активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), -глутамилтранспептидазы (ГГТП), креатинфосфокиназы (КФК), -бутирилдегидрогеназы (ГБДГ) в плазме крови определяли с помощью диагностических наборов DiaSys, Germany.

Для определения сульфгидрильных групп (SH-групп) использовали спектрофотометрический метод с использованием реактива Элмана (5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота) [24]. Активность СОД оценивали в системе генерации супероксидного радикала, который образуется в реакции восстановления молекулярного кислорода в присутствии феназинметасульфата и восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) [25]. Концентрацию продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), оценивали спектрофотометрическим методом, регистрируя базальный и Fe²⁺/аскорбат-индуцированный уровни [26].

Для определения стабильных метаболитов NO (NO_x-) применяли спектрофотометрический метод с использованием реактива Грисса, предварительно восстанавливая нитраты в нитриты ферментативным способом с использованием нитратредуктазы [27]. Активность NOC определяли радиометрическим методом по скорости накопления [³H]-L-цитрулина в реакции окисления [³H]-L-аргинина, катализируемой NOC [28].

Активность каспазы-3 определяли флуориметрическим методом с использованием флуорогенного субстрата каспазы-3 Ac-DEVD-AMC [29].

Содержание белка в пробах определяли по методу Бредфорд с использованием красителя Кумасси голубого [30].

Статистическую обработку и анализ результатов проводили в программе «Statistica 6.0». Данные представлены в виде $M \pm SEM$. Для оценки достоверности различий использовали U-тест Манна–Уитни, а также t-тест Стьюдента.

Результаты исследования

Галавит достоверно купировал выраженность спонтанного синдрома отмены морфина (рис. 1).

При синдроме отмены наблюдали выраженное и достоверно значимое ($P < 0,001$, t-тест) снижение массы тимуса (в контрольной группе данный показатель составил $229,5 \pm 13,7$ мг, а в опытной — $145,2 \pm 9,0$ мг). В группе животных, получавших только галавит, масса тимуса по сравнению с контрольной группой достоверно выросла ($P < 0,05$, t-тест) и составила $298,4 \pm 25,1$ мг, а в опытной группе животных, получавших галавит, данный показатель приблизился к значению в контрольной группе ($213,7 \pm 11,8$ мг), причем это значение было достоверно выше ($P < 0,002$, t-тест), чем в опытной группе.

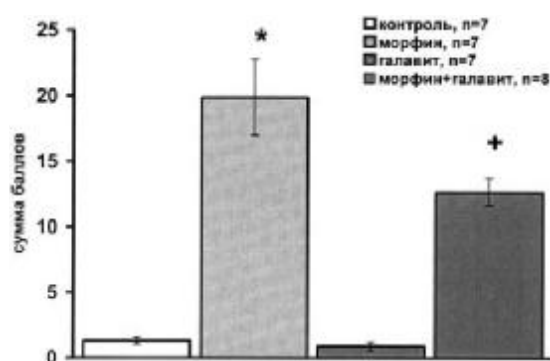


Рис. 1. Влияние галавита на выраженность синдрома отмены морфина.

* — достоверность различий (U-тест Манна-Уитни) от контрольной группы $P < 0,002$; + — от группы морфин $P < 0,05$

Однако активности АСТ и ГГТП при синдроме отмены существенно повысились, а применение галавита привело к нормализации этих показателей. Исследование сывороточных ферментов показало, что активность АЛТ, КФК и ГБДГ не изменяется ни при отмене морфина, ни под действием галавита (табл. 1).

Отмена морфина не сопровождалась изменениями показателей свободнорадикального гомеостаза в плазме крови (табл. 2), однако в печени крыс наблюдали выраженный окислительный стресс: в опытной группе снизилась концентрация небелковых SH-групп, базальная концентрация ТБК-АП увеличилась, а концентрация ТБК-АП после индукции снизилась. Введение галавита животным опытной группы нормализовало как базальный, так и индуцированный уровни ТБК-АП, однако концентрация небелковых SH-групп под действием галавита не повысилась. Ни отмена морфина, ни галавит не влияли на концентрацию общих SH-групп и активность СОД в печени (табл.3). В тимусе произошли специфические изменения показателей свободнорадикальных процессов. Содержание небелковых, но не общих, SH-групп в опытной группе снизилось, а галавит не повлиял на данный показатель ни сам по себе, ни на фоне отмены морфина. Как отмена морфина, так и введение галавита сопровождалось снижением базального, но не индуцированного уровня ТБК-АП (табл. 4).

При отмене морфина зарегистрировано уменьшение концентрации NO_x - в плазме, увеличение в тимусе; при этом галавит нормализовал концентрацию NO_x - . Ни отме-

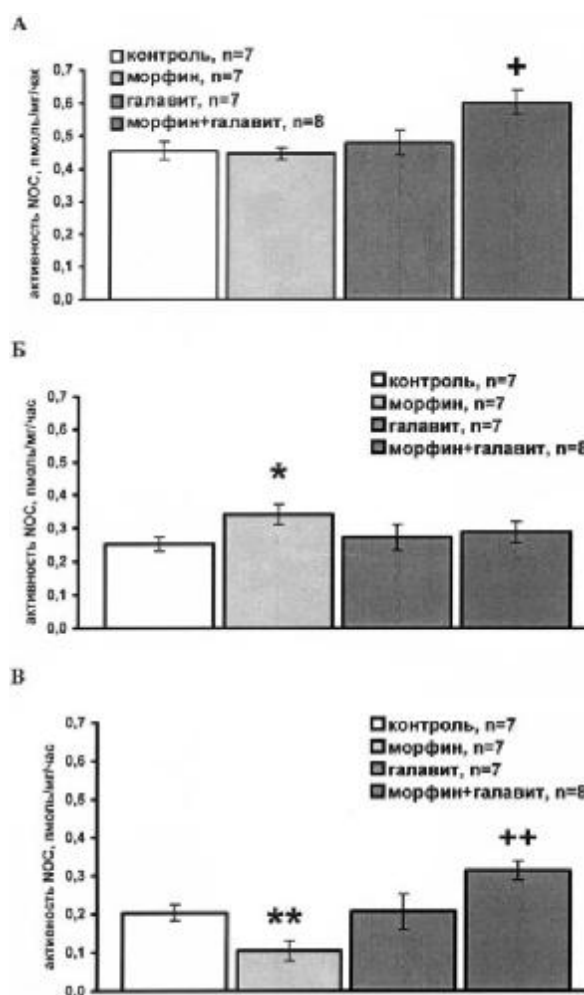


Рис. 2. Влияние галавита на активность общей NOS (А), калиций-зависимой (Б) и калиций-независимой (Б) в печени при синдроме отмены морфина. * — достоверность различий (t-тест Стьюдента) от контрольной группы $P < 0,05$, ** — $P < 0,02$; + — от группы морфин $P < 0,05$; ++ — $P < 0,0005$

на морфина, ни галавит не повлияли на концентрацию NO_x - в печени (табл. 5). Специфические изменения претерпела активность изоформ NOS в печени. Несмотря на то, что общая активность NOS не изменялась у морфини-

Таблица 1

Влияние галавита на активность ферментов плазмы крови при синдроме отмены морфина

Показатель, Ед/л	Контроль n = 7	Морфин n = 7	Галавит n = 7	Морфин + галавит n = 8
Аланинаминотрансфераза	106,8 11,3	116,1 10,4	113,5 2,4	121,5 5,0
Аспаратаминотрансфераза	179,9 11,9	238,2 14,7*	173,5 5,6	195,6 18,7
Гаммаглутамилтранспептидаза	4,0 0,9	16,8 3,3**	7,0 1,3	10,7 1,3
Креатинфосфокиназа	6287,0 292,1	5987,7 318,2	5564,3 606,8	5929,8 411,5
Гаммабутирилдегидрогеназа	195,2 21,7	260,0 21,8	163,4 15,4	171,0 26,9
Примечания: * — достоверность различий (t-тест Стьюдента) от контрольной группы $P < 0,02$, ** — $P < 0,005$				

Таблица 2

**Влияние галавита на показатели свободнорадикального гомеостаза
в плазме крови при отмене морфина у крыс**

Показатель	Контроль n = 7	Морфин n = 7	Галавит n = 7	Морфин + галавит n = 8
Небелковые SH-группы, мкмоль/л	6,8 1,4	6,0 1,3	9,0 1,9	7,2 1,6
Общие SH-группы, мкмоль/л	113,8 20,4	140,4 23,4	153,1 113,5	181,0 110,6
ТБК-АП, OD/мл	14,9 1,1	13,1 0,6	17,1 1,0	14,4 1,7
Активность СОД в эритроцитах, Ед/мг Нб	0,97 0,08	0,92 0,11	0,77 0,07	0,89 0,13
Активность СОД, Ед/л	32,6 1,4	34,0 2,5	30,34 2,32	33,71 3,32

Таблица 3

**Влияние галавита на показатели свободнорадикального гомеостаза
в печени при отмене морфина у крыс**

Показатель	Контроль n = 7	Морфин n = 7	Галавит n = 7	Морфин + галавит n = 8
Небелковые SH-группы, мкмоль/г ткани	5,5 0,3	3,8 0,3**	5,4 0,3	3,6 0,2
Общие SH-группы, мкмоль/г ткани	20,8 1,3	20,6 1,0	19,9 1,1	19,0 1,4
ТБК-АП, OD/г ткани	47,0 2,5	73,8 11,6*	38,3 4,8	37,9 2,9++
Индукция ТБК-АП, %	1057 148	545 152*	1055 173	1189 208+
Активность СОД, Ед/мг белка/мин	38,2 0,4	39,4 0,8	39,0 2,1	38,6 2,1
Примечания. * — достоверность различий (t-тест Стьюдента) от контрольной группы P<0,05, ** — P<0,001; + — достоверность отличий от группы морфин P<0,05; ++ — P<0,005				

Таблица 4

**Влияние галавита на показатели свободнорадикального гомеостаза
в тимусе при отмене морфина у крыс**

Показатель	Контроль n = 7	Морфин n = 7	Галавит n = 7	Морфин + галавит n = 8
Небелковые SH-группы, мкмоль/г ткани	3,7 0,3	2,3 0,2**	3,8 0,6	1,9 0,2
Общие SH-группы, мкмоль/г ткани	86,4 4,7	76,6 4,5	83,9 5,0	77,0 2,7
ТБК-АП, OD/г ткани	195,8 8,3	169,0 6,0	160,4 8,3*	163,5 8,1
Индукция ТБК-АП, %	564 21	537 49	579 43	471 44
Примечания. * — достоверность различий (t-тест Стьюдента) от контрольной группы P<0,05, ** — P<0,01				

зированных крыс в сравнении с контролем, а также у животных, получавших галавит (рис. 2А), морфин достоверно повышал активность кальцийзависимой формы фермента (рис. 2Б) и снижал активность кальцийнезависимой НОС (рис. 2В). При этом галавит нормализовал активность кальцийзависимой НОС (Рис. 2Б) и увеличивал выше исходного уровня активность кальцийнезависимой НОС (рис. 2В). Это приводило к повышению общей активности фермента в опытной группе, получавшей галавит (рис. 2А). Ни отмена морфина, ни введение галавита не повлияли на активность НОС в тимусе. Так, в контрольной группе данный показатель составил $0,357 \pm 0,034$ пмоль/ч/мг белка, при отмене морфина

$0,355 \pm 0,031$ пмоль/ч/мг белка, при введении галавита активность фермента составила $0,422 \pm 0,050$ пмоль/ч/мг белка, а при введении галавита на фоне отмены морфина — $0,291 \pm 0,051$ пмоль/ч/мг белка.

Ни отмена морфина, ни галавит не вызывали статистически значимых изменений активности каспазы-3 ни в печени, ни в тимусе (табл. 6).

Обсуждение результатов

Хорошо известно, что функционирование иммунной и нервной систем тесно взаимосвязаны посредством био-

Таблица 5

Влияние галавита на концентрацию NO_x- в плазме, печени и тимусе при отмене морфина у крыс

Объект	Показатель	Контроль n = 7	Морфин n = 7	Галавит n = 7	Морфин + галавит n = 8
Плазма	NO _x -, мкмоль/л	18,3 2,1	12,1 0,6*	14,4 0,8	13,9 1,9
Печень	NO _x -, мкмоль/мг белка	0,260 0,023	0,259 0,012	0,259 0,019	0,285 0,015
Тимус	NO _x -, мкмоль/мг белка	0,331 0,041	0,511 0,052*	0,407 0,024	0,383 0,02
Примечания: * — достоверность различий (t-тест Стьюдента) от контрольной группы P<0,05					

Таблица 6

Влияние галавита на активность каспазы-3 в печени и тимусе при отмене морфина у крыс

Объект	Активность каспазы-3, пмоль/мг/мин			
	Контроль n = 7	Морфин n = 7	Галавит n = 7	Морфин + галавит n = 8
Печень	38,7 12,0	26,9 5,3	68,7 24,0	42,8 15,8
Тимус	75,7 25,8	97,6 19,3	54,9 8,1	92,3 20,9

логически активных соединений, таких, как нейротрансмиттеры, гормоны и цитокины [31]. Препарат с иммуномодулирующими свойствами, галавит, успешно купировал выраженность опиоидного абстинентного синдрома. Можно предположить, что галавит нормализует нарушение при синдроме отмены морфина взаимодействие между иммунной и нервной системами, тем самым ослабляя абстиненцию. Это подтверждается данными о том, что целый ряд иммуотропных препаратов (интерферон-, мурамил-дипептид, кортизол, циклоспорин, циклофосфамид) способны модифицировать поведенческие проявления опиоидного синдрома отмены [32].

Факт снижения массы тимуса при хроническом введении опиатов, который мы зафиксировали, хорошо известен: снижение может достигать 70–80% [33]. Атрофия тимуса сопровождается изменением его клеточного состава, в частности значительным снижением числа тимоцитов CD4+ и CD8+ [33]. Это может быть связано с интенсификацией апоптоза определенных популяций тимоцитов [33]. Однако мы не обнаружили значимых изменений активности ключевого фермента апоптотического каскада, каспазы-3, в тимусе животных, находящихся в состоянии абстиненции. Возможно, апоптоз в данных условиях протекает по пути, не зависящему от активности каспаз (в тимоцитах показана такая возможность [34]). Возможным механизмом нормализации массы тимуса при введении галавита крысам в состоянии отмены может быть стимуляция миграции клеток в ткань за счет синтеза цитокинов и торможение апоптоза, который вызывает снижение массы данного органа.

При введении галавита мы зарегистрировали нормализацию содержания ТБК-АП при вызванном отменой морфина окислительном стрессе в печени. Это могло благотворно повлиять на целостность клеток печени и привести к нормализации активности сывороточных ферментов. Ранее также была обнаружена антиоксидантная

активность галавита, способного модулировать активность антиоксидантных ферментов (пероксидазы и каталазы) в эритроцитах мышей [20].

Отдельного внимания заслуживает способность галавита нормализовать кальцийнезависимую активность NOC, сниженную в условиях отмены морфина. Так кальцийнезависимая изоформа NOC в печени может продуцироваться тканевыми макрофагами — купферовскими клетками и участвует в неспецифическом иммунном ответе [35]. Нормальное функционирование систем неспецифической иммунной защиты в данных условиях очень важно, тем более что получены данные, свидетельствующие о колонизации граммотрицательными микроорганизмами ткани печени и развитии септического состояния в условиях морфинизации [36].

Возможным механизмом нормализации активности кальцийнезависимой изоформы NOC в печени посредством галавита может быть модуляция синтеза макрофагами (купферовскими клетками) провоспалительных цитокинов, таких, как интерферон-, фактор некроза опухоли-, интерлейкин-1, от которых зависит активность этого фермента [37]. Известно, что отмена морфина сопровождается дефицитом функции макрофагов и снижением содержания мРНК интерлейкина-1 и фактора некроза опухоли- [38]. С другой стороны, галавит может регулировать синтез цитокинов макрофагами (интерлейкина-1,-6, фактора некроза опухоли- и др.) стимулировать фагоцитарную активность при исходном ее дефиците [19]. Возможно также, что вызванная галавитом продукция хемокинов клетками печени (например, купферовскими клетками) может стимулировать миграцию в ткань клеток, способных экспрессировать NOC, таких, как нейтрофилы и моноциты.

Таким образом, в условиях морфиновой абстиненции галавит проявил себя как эффективный препарат с комбинированным действием, способный купировать выра-

женность признаков отмены морфина и нормализовать массу тимуса. Кроме того, галавит нормализует свободно-радикальный дисбаланс и активность изоформ NOC в печени.

Список литературы

- Atici S., Cinel I., Cinel L., Doruk N., Eskandari G., Oral U. Liver and kidney toxicity in chronic use of opioids: An experimental long term treatment model// J. Boisci. — 2005. — Vol. 30. — P. 245-252.
- Наумова Т.А., Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Баронец В.Ю., Алябьева Т.Н. Нарушение иммунного статуса и патология печени у молодых потребителей героина// Вестник РАМН. — 2003. — Т. 3. — С. 32-36.
- McCarthy L., Wetzel M., Sliker J.K., Eisenstein T.K., Rogers T.J. Opioids, opioid receptors, and the immune response// Drug and Alcohol Depend. — 2001. — Vol. 62. — P. 111-123.
- Константинопольский М.А., Пирожков С.В., Соловьева А.Г., Панченко Л.Ф., Барков Н.К. Синдром отмены и перекисное окисление липидов при хроническом введении крысам наркотических анальгетиков// Эксперим. и клин. фармакол. — 1992. — Т. 55. — С. 21-24.
- Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Соловьева А.Г. Антиоксидантные системы и перекисное окисление липидов при наркотической интоксикации// Вопросы наркологии. — 1995. — № 1. — С. 32-36.
- Zhang Y.T., Zheng Q.S., Pan J., Zheng R.L. Oxidative damage of biomolecules in mouse liver induced by morphine and protected by antioxidants// Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. — 2004. — Vol. 95. — P. 53-58.
- Needham W.P., Shuster L., Kanel G.C., Thompson M.L. Liver damage from narcotics in mice// Toxicol. Appl. Pharmacol. — 1981. — Vol. 58 — P.157-170.
- Skoulis N.P., James R.C., Harbison R.D., Roberts S.M. Perturbation of glutathione by a central action of morphine// Toxicology. — 1989. — Vol. 57. — P. 287-302.
- Sumathy T., Subramanian S., Govindasamy S., Balakrishna K., Veluchamy G. Protective role of *Bacopa monniera* on morphine induced hepatotoxicity in rats// Phytother. Res. — 2001. — Vol. 15 — P. 643-645.
- William S., Sekar N., Subramanian S., Govindasamy S. Toxic effect of morphine and the antagonistic role of naloxone on isolated rat hepatocytes// Biochem. Int. — 1991. — Vol. 23 — P. 1071-1077.
- Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Надеждин А.В., Баронец В.Ю., Усманова Н.Н. Перекисное окисление липидов, система антипероксидальной защиты плазмы крови и патология печени и сердца у подростков, злоупотребляющих героином// Вопросы биомед. химии. — 1999. — Т. 45. — С. 501-506.
- Li J., Billiar T.R. Nitric Oxide. IV. Determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver// Am. J. Physiol. — 1999. — Vol. 276. — P. 1069-1073.
- Lysle D.T., Carrigan K.A. Morphine-6beta-glucuronide modulates the expression of inducible nitric oxide synthase// Inflammation. — 2001. — Vol. 25. — P. 267-275.
- Knight J.A. Review: free radicals, antioxidants and immune system// Ann. Clin. Lab. Sci. — 2000. — Vol. 30. — P. 145-158.
- Govitrapong P., Suttitum T., Kotchabhakdi N., Unekabh T. Alterations of immune functions in heroin addicts and heroin withdrawal subjects// J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1998. — Vol. 286. — P. 883-889.
- Bryant H.U., Bernton E.W., Holaday J.W. Immunosuppressive effects of chronic morphine treatment in mice// Life Sci. — 1987. — Vol. 41 — P. 1731-1738.
- Pacifici R., Di Carlo S., Bacosi A., Zuccaro P. Macrophage functions in drugs of abuse-treated mice// Int. J. Immunopharmacol. — 1993. — Vol. 15. — P. 711-716.
- Bhargava H.N., Thomas P.T., Thorat S., House R.V. Effects of morphine tolerance and abstinence on cellular immune function// Brain Res. — 1994. — Vol. 642. — P. 1-10.
- Латышева Т.В., Щербакова О.А. Новые возможности направленной иммунологической коррекции на примере отечественного иммуномодулятора "Галавит"// Росс. Аллергол. Ж. — 2004. — №1. — С. 5-12.
- Подколзин А.А., Донцов В.И., Бабижаева О.М. Коррекция ферментов антиоксидантной системы старых мышей новым иммуномодулятором "Галавит"// Ежегодник Национального Геронтологического Центра. — 2001. — Вып. 4. — С.81-83.
- Rahman S., Ali Khan R., Kumar A. Experimental study of the morphine de-addiction properties of *Delphinium denudatum* Wall// BMC Complement. Altern. Med. — 2002. — Vol. 2. — P. 6.
- Dum J., Blasig J., Herz A. Buprenorphine: demonstration of physical dependence liability// Eur. J. Pharmacol. — 1981. — Vol. 70. — P. 293-300.
- Blasig J., Herz A., Reinhold K., Zieglgansberger S. Development of physical dependence on morphine in respect to time and dosage and quantification of the precipitated withdrawal syndrome in rats. // Psychopharmacologia (Berl.). — 1973. — Vol. 33. — P. 19-38.
- Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent// Anal. Biochem. — 1968. — Vol. 25. — P. 192-205.
- Nishikimi M., Appaji N., Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen// Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1972. — Vol. 46. — P. 849-854.
- Каган В.Е., Прилипко Л.Л., Савов В.М. и соавт. Участие активных форм кислорода в ферментативном окислении липидов в биомембранах// Биохимия. — 1979. — Т. 44. — С. 379-385.
- Grisham M.B., Johnson G.G., Lancaster J.R. Jr. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids// Methods Enzymol. — 1996. — Vol. 268. — P. 237-246.
- Онуфриев М.В., Семенова Т.П., Колаева С.Г., Моисеева Ю.В., Егорова Л.К., Гуляева Н.В. Активность синтазы оксида азота в отделах мозга сусликов *Citellus Undulatus* в разных фазах гипбернационного цикла// Нейрохимия. — 2002. — Т. 19. — С. 264-268.
- Яковлев А.А., Онуфриев М.В., Степанчиков М.Ю., Браун К., Гуляева Н.В. Активность каспазы-3 в отделах мозга грызунов разных видов// Нейрохимия. — Т. 18. — С. 41-43.
- Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding// Anal. Biochem. — 1976. — Vol. 72. — P. 248-254.
- Steinman L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems// Nat Immunol. — 2004. — Vol. 5. — P. 575-581.
- Dougherty P.M., Pellis N.R., Dafny N. The brain and the immune system: an intact immune system is essential for the manifestation of withdrawal in opiate addicted rats// Neuroscience. — 1990. — Vol. 36. — P. 285-289.
- Sei Y., Yoshimoto K., McIntyre T., Skolnick P., Arora P. Morphine-induced thymic hypoplasia is glucocorticoid-dependent// J. Immunol. — 1991. — Vol. 146. — P. 194-196.
- Doerfler P., Forbush K.A., Perlmutter R.M. Caspase enzyme activity is not essential for apoptosis during thymocyte development// J. Immunol. — 2000. — Vol. 164. — P. 4071-4079.
- Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. // Nat. Immunol. — 2001. — Vol. 2. — P. 907-916.
- Hilburger M.E., Adler M.W., Truant A.L., Meissler J.J. Jr, Satischchandran V., Rogers T.J., Eisenstein T.K. Morphine induces sepsis in mice// J. Infect. Dis. — 1997. — Vol. 176. — P. 183-188.

37. Conner E.M., Grisham M.B. Nitric oxide: biochemistry, physiology and pathophysiology// Methods: a comparison to methods in enzymology. — 1995. — Vol. 7. — P. 3-13.

38. Rahim R.T., Feng P., Meissler J.J., Rogers T.J., Zhang L., Adler M.W., Eisenstein T.K. Paradoxes of immunosuppression in mouse models of withdrawal// J. Neuroimmunol. — 2004. — Vol. 147. — P. 114-120.

EFFECTS OF IMMUNOMODULATOR GALAVIT ON SOMATIC CONSEQUENCES OF MORPHINE ABSTINENCE SYNDROME

PEREGUD D.I.	PhD student, National Research Center on Addictions, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow
ONUFRIEV M.V.	PhD, Senior Researcher, Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow
STEPANICHEV M.Y.	PhD, Senior Researcher, Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow
YAKOVLEV A.A.	PhD student, Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow region, Dolgoprudny
LAZAREVA N.A.	researcher, Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow
PAVLOVA T.V.	PhD student, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow
BARONETS V.Y.	Senior Researcher, Laboratory of Biochemistry, National Research Center on Addictions, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow
ZHILOV V.Kh.	General Director, Medicor LTD
ZHILOVA L.N.	Deputy Director, Medicor LTD
PANCHENKO L.F.	D.Med.Sci., professor, academician of RAMS, Head of the Laboratory of Biochemistry, National Research Center on Addictions, Ministry of Health of Russian Federation
GULYAEVA N.V.	Dr.med.sci., Head of the Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow

Effects of immunomodulatory drug galavit on the behavioral indices of morphine abstinence syndrome, free radical homeostasis and nitric oxide system in liver and thymus were studied in rats. Galavit reduced the expression of the abstinent syndrome and normalized thymus weight reduced during the abstinence. Galavit also normalized the activities of serum enzymes aspartate aminotransferase and gamma-glutamyl transpeptidase. Morphine abstinence was accompanied by an expressed oxidative stress in the liver. Galavit significantly reduced disturbances in liver free radical homeostasis. Galavit eliminated abstinence-related pathologic re-distribution of nitric oxide synthase isozymes activities in liver. The data suggest that galavit may be a drug of choice in the therapy of opiate abstinence syndrome.