

ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ГОРЯНОВА
Наталія Олександрівна

ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ
ТОКСИЧНИХ УРАЖЕНЬ ЗОРОВОГО НЕРВА

14.03.07 - фармакологія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового
ступеня кандидата медичних наук

Одеса - 1996



00760463 (Q)

Роботу виконано в лабораторії хвороб та тканинної терапії
Інституту біофармацевтичної платова АМН України та
Одеському державному медичному університеті.

Наукові керівники - доктор медичних наук,
старший науковий співробітник
Олена Петрівна Сотникова
- доктор медичних наук,
старший науковий співробітник
Наталія Євгенівна Думброва

Офіційні опоненти - доктор медичних наук,
старший науковий співробітник
Ігор Миколайович Мойсєєв
- доктор медичних наук,
старший науковий співробітник
Валентин Владиславович Савко

Провідна установа - Інститут фармакології
і токсикології АМН України

Захист відбудеться шостого 1996 року о ____ годині
на засіданні спеціалізованої ради Д 05.04.02 при Одеському
державному медичному університеті (270100, Одеса, пров.
Валіховський, 2).

Автореферат розіслано 22 вересня 1996 року.
З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці університету.

Вчений секретар Спеціалізованої ради доктор медичних наук,
професор _____ Л.С.Годлевський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

АКТУАЛЬНІСТЬ ПРОБЛЕМИ. Дистрофічні захворювання зорово-нервового апарату являють собою вельми актуальну проблему в офтальмології. Це зумовлено важкою, неуклінно прогресуючою їх течією та низькою ефективністю терапевтичних засобів, що в кінцевому результаті призводить до слабого бачення та сліпоті.

Однією з частих причин дистрофічних та субатрофічних патологій органа зору являються різні інтоксикації, що пов'язано з високим рівнем розвитку хімічної промисловості, хімізацією побуту, сільського господарства, великою кількістю медикаментозних засобів, багато з яких, навіть у лікувальних дозах при довгочасному використанні, можуть викликати токсичні нейропатії, неврити, дистрофії та атрофії зорових нервів. (Я.Б.Максимович, 1971 И.Л.Гольдовская, 1973: Н.Константинов, 1973; В.П.Можеренков с соавт., 1979, 1992, А.В.Степанов, А.Н. Иванов, 1995; N.Cavallaro, F.Spina, 1987) У найбільшій мірі це стосується антибіотиків, сульфаніламідів, протиглисних, протитуберкульозних та інших препаратів.

Вищесказане стало основою для різностороннього експериментального дослідження токсичних уражень зорово-нервового апарату ока, що викликались йод- і монобромцетатами та іншими хімічними агентами (Г.Ю.Килимник, 1968; С.В.Шершевская, Ю.Е. Морозов, 1968, 1969; С.В.Самсоненко, М.Е.Ойзерман, 1975, В.П. Плевинскис, 1979; 1981; П.А.Бездетко, Т.В.Тюрина, 1995). Дослідження такого плану становлять значну цінність, оскільки на їхньому вивченні базується успішне застосування лікувально-профілактичних засобів.

При вивченні впливу токсичних агентів на структуру та метаболізм зорового нерва закономірний інтерес викликає стан його природньої неспецифічної резистентності та шляхи спрямованого керування нею. Оскільки прискорена урбанізація висунула цю проблему до ряду глобальних (А.П.Авцын, 1974; В.В.Куприянов, 1987 та ін.), пошук нових засобів нормалізації порушених процесів метаболізму, а також їх попередження, є на сьогодні актуальною задачею (Д.С.Саркисов с соавт., 1975-1981; Н.Н. Сиротинин, 1981).

Це положення було взяте за основу для вивчення протекторної дії фармакологічних препаратів біогенного походження (екстракту алое та гідролізату РНК - ЕНКАД) на моделі токсичного ураження зорового нерва. У літературі наводиться значна кількість робіт, в яких продемонстровано захисний та лікувальний ефект біогенних стимуляторів за В.П. Філатовим при різних видах експериментальної патології (В.П.Соловьева, 1972; В.П. Соловьева, В.П.Плевинскис, 1976; Е.П.Сотникова, 1989; Е.П.Сотникова с соавт., 1995), а також у клініці (А.Г.Авцын с соавт., 1977; Р.Ф.Елисеєва, Г.И.Д-нестрова, 1982; В.И.Белоус, 1983; Г.Д.Жабоедов, Т.С.Корнева, 1983; И.Ф.Гогина, 1984).

Останнім часом в офтальмологічну практику активно вводиться препарат специфічної дії ЕНКАД (Е.А. Бормусова, 1985, Н.В. Коновалова, 1989; О.А. Андрушкова, 1991; А.М. Солдатова, 1992) в лікуванні деяких захворювань, пов'язаних з порушенням білкового обміну.

Разом з тим, клінічне застосування біогенних препаратів значно випередило експериментально-теоретичні розробки і часто носить емпіричний характер. Ось чому вивчення структурних та метаболічних аспектів їх фармакологічної дії на інтактному зоровому нерві, а також при модельованій патології, дозволить краще зрозуміти патогенез токсичних пошкоджень та намітити більш раціональний та обміркований підхід до їх застосування у клініці.

МЕТА І ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метою даного дослідження було виявлення особливостей фармакологічної дії препаратів біологічного походження екстракту алое та ЕНКАД і оцінка їх лікувально-профілактичної ефективності на моделі токсичного ураження зорового нерва. Для її досягнення вирішувались подальші основні завдання:

1. Вивчити особливості структурно-метаболічних реакцій зорового нерва на моделі гострої та хронічної токсичної нейропатії (цитохімічне та електронно-мікроскопічне дослідження).
2. Вивчити особливості та динаміку фармакологічного ефекту препаратів екстракту алое та ЕНКАД, як кожного

зокрема, так і в сумісному застосуванні при дії на зоровий нерв інтактною тварини.

3. Вивчити протекторні та відновлювальні властивості препаратів екстракту алое та ЕНКАД при модельованому токсичному ураженні зорового нерва.

4. На основі отриманих даних надати експериментальне обґрунтування про доцільність сумісного застосування цих препаратів у лікувальній медицині, в тому числі практичній офтальмології.

НАУКОВА НОВИЗНА. На основі власних даних та аналізу літератури встановлено принципову подібність структурно-метаболических характеристик зорового нерва кроля і людини, що дозволяє припустити тотожність у протіканні фізіологічних, патологічних та компенсаційно-відновлювальних процесів.

Для вивчення морфологічних аспектів фармакологічної дії біогенних препаратів (алоє, гідролізат РНК) вперше використано інгібіторний метод (монобромцтова кислота, актиноміцин Д).

У модельних дослідах одержано нові дані, що стосуються окремих ланок патогенезу токсичних ушкоджень зорового нерва. Встановлено характерний для кожного інгібітору комплекс ультраструктурних змін нейрогліальних клітин та нервових волокон.

Вперше на ультраструктурному рівні вивчено вплив препаратів екстракту алое та ЕНКАД на інтактну структуру та метаболізм зорового нерва кроля. Встановлено їх стимулюючу дію на протікання процесів обміну в клітинних елементах зорового нерва, що виявляється в посиленні білоксинтезуючої функції, підвищенні активності ферментів, посиленні процесів гліколізу.

Вперше встановлено залежність характеру біологічної дії ЕНКАД від його концентрації: так, 2%-й розчин чинить найбільш оптимальний вплив на структуру і метаболізм нервової тканини. Виявлено структурні особливості внутрішньоклітинних реакцій на введення алое та різних концентрацій гідролізату РНК.

Вперше встановлено, що сумісне використання препаратів екстракту алое та ЕНКАД дозволяє пролонгувати надаваний ними фармакологічний ефект. На моделі токсичного ураження зорового нерва виявлено антитоксичну дію біогенних препаратів, а також їх властивість підвищувати клітинну резистентність.

ПРАКТИЧНА ЦІННІСТЬ. Вперше показано, що терапевтичний ефект гідролізату РНК залежить від його концентрації: встановлено, що 2% розчин надає найбільш сприятливу нормалізуючу дію на протікання обмінних та компенсаційно-відновлювальних процесів у мікроструктурах зорового нерва.

Встановлено пролонгуючий ефект сумісного застосування препаратів алое та ЕНКАД, котрий може бути використано у клініці при лікуванні захворювань, що супроводжуються порушенням функціональної активності клітин, а також для підвищення витривалості біологічних систем.

Встановлена на моделі токсичних дистрофій зорового нерва, протекторна та реактивуєча дія препаратів алое та ЕНКАД, може бути використана в клініці для усунення токсичних ефектів, що виникають в тому числі при довготривалому використанні високих доз антибіотиків, сульфаніламідів, та інших оптикотоксичних препаратів.

Виявлено здатність препаратів алое та ЕНКАД підвищувати метаболічну стійкість тканин до несприятливих впливів, що може послужити передумовою для їх використання з профілактичною метою (наприклад, для попередження медикаментозної патології у клініці, а також на промислових підприємствах, пов'язаних з виробництвом синтетичних препаратів, засобів побутової хімії, ядохімікатів, добрив тощо).

Обґрунтовано доцільність використання біогенних препаратів як природних регуляторів обмінних процесів.

Отримані експериментальні дані в значній мірі пояснюють лікувальні ефекти вивчених препаратів, показуючи, що їх дія пов'язана з активуючим впливом на обмін речовин, що призводить до посилення метаболічних процесів. Це може по-

служити теоретичною передумовою для сумісного використання алое-ЕНКАД у комплексній терапії захворювань нервової системи взагалі та зорово-нервового апарату ока зокрема.

ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ, ЩО ВІНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ.

1. Модельована інтоксикація тварин монобромацетатом та актиноміцином Д призводить до виникнення структурних та метаболічних ушкоджень усіх компонентів зорового нерва, характер та вираженість котрих залежить від виду та концентрації інгібітору.

2. Екстракт алое для ін'єкцій, що відноситься до групи біогенних препаратів, чинить виражену фармакологічну дію на зоровий нерв, активуючи білоксинтезуючу та енергоутворюючу функцію гліоцитів.

3. ЕНКАД, що є гідролізатом дріжджової РНК, віднесений до групи офтальмопрепаратів, має різну фармако-терапевтичну дію в залежності від його концентрації.

4. Сумісне використання екстракту алое та 2%-го розчину ЕНКАД пролонгує фармакологічну дію цих препаратів на структуру зорового нерва.

5. Захисний ефект попереднього застосування препаратів алое та ЕНКАД при модельованій токсичній патології зорового нерва зумовлено підвищенням неспецифічної клітинної резистентності.

6. Курсове лікувальне застосування препаратів екстракту алое та ЕНКАД при модельованій токсичній патології виявляє біорегулюючу дію на компенсаційно-відновлювальні процеси.

ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ. Результати проведеного дослідження мають науковий та практичний інтерес і можуть бути використані в учбових програмах з фармакології, гісто- та цитології, офтальмології та ін.

Матеріали дисертації упроваджено:

- в учбово-методичну роботу: в лекційні курси з фармакології, патофізіології, патанатомії, гістології Одеського дер-

жавного медичного університету; в лекційний курс циклу вдосконалення лікарів-офтальмологів ОДМУ;

- в лікувальну роботу: кафедри туберкульозу Одеського державного медичного університету, 3-го відділення НДІ очних хвороб та тканинної терапії АМН України; Укр. НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України; очне відділення Одеської обласної клінічної лікарні.

АПРОБАЦІЯ ДИСЕРТАЦІЇ. Матеріали дисертації докладено та обговорено на засіданні спілки анатомів, гістологів, ембріологів (Одеса, 1986), на Вченій Раді НДІ очних хвороб та тканинної терапії ім. В.П.Філатова АМН України (Одеса, 1988), а також на конференції молодих вчених ОМІ (1987), на 5-й Всесоюзній Міжуніверситетській конференції "Біологія клітини" (Тбілісі, 1987), на 8-му Всесоюзному симпозиумі по застосуванню нуклеїнових кислот у біології та медицині (Рига, 1987), на засіданні Всесоюзної школи-семінару "Люмінісцентні та світлооптичні методи в гістохімії" (Чебоксари, 1990), на республіканській НПК "Фундаментальні та клінічні аспекти сучасної реабілітації" (Полтава, 1995),

ПУБЛІКАЦІЇ. За темою дисертації опубліковано 15 робіт, з них 2 в центральних наукових журналах.

КОНКРЕТНИЙ ОСОБИСТИЙ ВНЕСОК АВТОРА

Автором особисто проведено експериментальне дослідження структурно-метаболічних аспектів токсичного ураження зорового нерва та ефективності лікувально-профілактичного застосування біологічно-активних препаратів екстракту алое і ЕНКАД, проаналізовано отримані дані, зроблено висновки.

СТРУКТУРА ТА ОБСЯГ ДИСЕРТАЦІЇ. Зміст роботи викладено на 189 сторінках друкованого тексту. Конструктивно дисертація складається зі вступу та 5-ти глав (огляд літератури-1 глава, матеріал та методи - 1 глава, власні дослідження-3 глави), підсумку, висновків, покажчика літератури та додатку. Текст ілюстровано 59 малюнками, що вміщують 16 графіків, 40 електронно-мікроскопічних фотографій, 2 світлооптичні мікрофотографії, 1 схему. Бібліографія складається з 250 вітчизняних та 133 іноземних джерел.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 390 здорових дорослих кролях обох статей, породи шиншила масою 2,5-3,5 кг. Особливості ультраструктури інтактного зорового нерва було вивчено на 5 тваринах. Контролем до проведених дослідів служили інтактні тварини тієї ж статі, віку та маси, які утримувались у стандартних умовах віварію. З метою виключення дії емоційних факторів, останні піддавались умовному впливу.

Першу групу експериментів було присвячено вивченню цитохімічних та ультраструктурних змін зорового нерва під дією токсичних речовин. Для моделювання різних стадій токсичних нейропатій зорового нерва було використано різні за механізмом дії ушкоджуючі фактори: монобромацетат і актиноміцин Д.

Бром- та йодацетат є характерними інгібіторами гліколізу (В.В.Соколовский, 1971; И.Б.Солдатов с соавт., 1976; Е.А.-Кречковский, 1978; А.Л.Ленинджер, 1976, М.Ј. Sabry е.а., та ін.). Введення великих доз бром- та йодацетату (порядку 25-40 мг/кг) використовувалось багатьма авторами для моделювання експериментальної дегенерації сітківки (Г.Ю.Килимник, 1968, С.В.Шершевская, Ю.Е.Морозов, 1969; Р.В.Самсоненко, М.В.Ойзерман, 1975; М.В.Ойзерман, 1976; В.П.Плевинскис, 1979, 1981 та ін.). Вибір монобромацетату зумовлено меншою, в порівнянні з іншими тіоловими отрутами, токсичністю (D.R.Lucas et al., 1967). У наведених роботах було встановлено дози зворотнього пригнічуючого впливу на вуглеводні сполуки та білкові тіоли зорово-нервового апарату ока, що враховувалось нами при проведенні цього дослідження.

Актиноміцин Д є представником тієї групи антибіотиків, що викликають зниження синтезу ДНК-полімерази і тим самим вибірково виключають синтез ДНК-залежної РНК, що призводить до пригнічення синтезу білка в клітині (О.О.Сазыкин, 1968; И.П.Ашмарин, Л.А.Ключаров, 1975; Е.Р.Гейл с соавт., 1975 та ін.). При визначенні токсичних доз антибіотику нами було використано дані інших авторів (М.В.Шорникова, М.Грущинская, 1976; Г.С.Квинихидзе с соавт., 1977;

В.П.Плевинскис, 1979, 1981; В.Я.Бродский, Н.В.Нечаева, 1973,1988; Г.Харрис с соавт., 1973.) які застосовували актиноміцин у дозах від 0,1 до 1,0 мг на кг маси.

Обидва ушкоджуючих агента вводили одноразово: монобромацетат - внутрішньовенно у вигляді 0,5% розчину в дозах 1,0 - 2,0, 5,0 - 6,0 та 10,0 - 12,0 мг/кг. Дослідні тварини цієї групи правили за контроль до 3-ї та 4-ї груп.

Другу частину роботи було присвячено вивченню можливого активуючого впливу на компенсаційно-приспосовувальні реакції зорового нерва з метою запобігання розвитку токсичного ураження, або послаблення його. Для цього використовували такі біологічно активні речовини, як екстракт алое та ЕНКАД (гідролізат РНК, затверджено фармкомітетом 06.05.87, р. № 87/1186/4). Дослідження дії цих препаратів при курсовому їх застосуванні (3 тижні) на інтактний зоровий нерв складало другу групу експериментів, у якій можна виділити три серії: 2-а, 2-б, 2-в.

У 2-а серії тваринам щоденно вводили по 0,5 мл рідкого екстракту алое підшкірно. В серії 2-б вони одержували препарат ЕНКАД в трьох різних концентраціях: 1%, 2% та 3,5% - у вигляді щоденних субкон'юнктивальних ін'єкцій по 0,2 мл. Нарешті, у 2-в серії було вивчено вплив сумісного застосування екстракту алое та 2% розчину ЕНКАД. Спосіб та тривалість застосування препаратів були аналогічними попереднім серіям.

У 3-ій групі вивчались протекторні властивості сумісного застосування препаратів екстракту алое та ЕНКАД (2% розчину) у відношенні до токсичних впливів інгібіторів. Для цього через добу після завершення курсового прийому фармакопрепаратів кролям одноразово вводили монобromoцтову кислоту або актиноміцин Д в тих же дозах і тим же способом, що і в 1-ій групі.

Реактивуючу (відновлювальну) дію поєданого застосування ЕНКАД та екстракту алое було досліджено у 4-ій групі. Для цього тваринам спочатку вводили інгібітори (так само, як в першій, контрольній, групі), а за півгодини починали застосовувати біопрепарати по схемі.

Евтаназія тварин здійснювалась внутрішньовенною ем-

болією на фоні глибокого наркозу. Взяття матеріалу, в залежності від умов досліду, проводили через 1/2, 1, 2, 4, 6, 12 годин та від 1-ї до 34-х діб після закінчення досліду. Морфологічними та гістохімічними методами було вивчено нервову тканину зорового нерва (гліоцити та нервові волокна).

При взятті та обробці матеріалу для цитохімічних досліджень керувалися методичними рекомендаціями ряду авторів (Е.Г.Школьник-Яррос, 1962; А.А.Авцын с соавт., 1971). Об'єкти фіксували в охолоджену фіксаторі Бродського, дотримуючись умов одночасної обробки контрольного та дослідного матеріалу. З тканин, залитих у парафін, виготовляли зрізи товщиною 7-10 мкм. Сумарні білки ідентифікували бромфеноловим синім за прописом В.Г.Єлисеєва. Для контролю на специфічність реакції використовували трипсин. РНК виявляли за прописом Einarson (1951) з ферментативним контролем на специфічність РНК-азою. Вуглеводні сполуки визначали ШИК-реакцією за Шабадашем із застосуванням амілази як ферментативного контролю (1949).

Для визначення активності ферментів лактатдегідрогенази (ЛДГ) та сукцинатдегідрогенази (СДГ) використовували криостатні зрізи товщиною 10-12 мкм, виготовлені із свіжознятої тканини. Активність СДГ визначали за методом Нахлеса, для виявлення ЛДГ застосовували метод Гесс, Скарпеллі та Пірс (Э.Пирс, 1962). Оглядове забарвлення здійснювалось на парафінових зрізах по Ніслю, в ряді випадків на напівтонких епоксидних зрізах 0,1% розчином толуїдинового синього.

Кількісна оцінка гістохімічних реакцій здійснювалась на цитофотометрі МЦФВ-1 за однопроменевою методикою при збільшенні $\times 720$ та діаметрі зонду 0,03 мм. Використовувались такі довжини хвиль: 550-570 мкм - для РНК та полісахаридів; 580-595 мкм - для сумарного білка; 570 мкм - для СДГ та ЛДГ. У кожному спостереженні фотометрували не менш, як 30 клітин (при 2-4-кратному їх вимірюванні), приблизно стільки ж замірів робили з аксоплазми. Одночасно на одному склі досліджувались контрольні та дослідні об'єкти. Такий методичний прийом забезпечував одержання надійної інформації, дозволяючи виключити систематичні похибки

(П.С.Агроскин, Г.В.Папаян, 1977). Кількісний вміст продуктів гістохімічних реакцій виражали в умовних одиницях (у.о.).

Цифрові показники піддавали статистичній обробці відповідно з рекомендаціями П.С.Камінського (1964), В.С.Бес-смертного (1967), В.Ю.Урбаха (1975), G.L.Wield (1969) на мікро-калькуляторі ВЗ-34. Вірогідність отриманих результатів визначали за критерієм Ст'юдента при імовірності похибки $P < 0,05$.

Гістохімічні аспекти роботи проконсультовані доктором медичних наук, професором В.П.Плевінскісом.

Для цілей електронної мікроскопії використовували свіжезяті шматочки зорового нерва, фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду на протязі 4-х годин з дофіксацією 1% розчином чотирьохокису осмію на протязі 1 години; обезводнювали в етилових спиртах висхідних концентрацій та абсолютному ацетоні, заливали у суміш епоксидних смол епону з аралдітом. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультратомах ЛКБ-3 та ЛКБ "НОВА" (Швеція). Подвійне контрастування проводили 2% розчином ураніацетату на 70 етанолі та цитратом свинцю по Reynolds (1963). Дослідження матеріалу проводили на електронному мікроскопі ЕМВ-100 БР.

При обробці матеріалу урахувались рекомендації А.Ф.-Кисельової з співавторами (1983), В.Я.Карупу (1984), В.Уіклі (1975).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

1. СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ ЗОРОВОГО НЕРВА ПІД ДІЄЮ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН

1.1. Монобромцтова кислота. Проведеним дослідженням встановлено, що ступінь цитохімічних та ультраструктурних порушень зорового нерва при дії на нього токсичними речовинами цілком залежав від виду та дози альтеранту.

Було показано, що введення мінімальної концентрації монобромацетату (1,5-2,0 мг/кг) викликало метаболічні порушення, які реєструвались тільки на протязі 1 доби, супро-

воджуючись зниженням активності ферментів СДГ та ЛДГ (до 20% в аксонах і 40-50% в глії), підвищенням рівня полісахаридів до 50% при відсутності змін з боку РНК і загального білка. Визначено також короточасні та зворотні структурні зміни переважно гідропічного характеру.

Використання середньої дози альтеранту (5,0-6,0 мг/кг) викликало більш тривалі порушення досліджуваних хімічних інгредієнтів. Реакція структурних елементів зорового нерва на введення токсичної речовини відрізнялась поліморфізмом, характеризуючим різний ступінь ураження та різний рівень компенсаційно-відновних процесів.

При дії максимальною дозою монобромацетату (10,0-12,0 мг/кг) виявлені метаболічні порушення реєструвались на протязі 30 днів. На фоні стійкого зниження активності ЛДГ (до 30% і 50%) помічалось підвищення рівня полісахаридів, спочатку в аксоплазмі до 45%, а на третю добу і в глії - до 50%. Вміст РНК та сумарного білка був значно зниженим упродовж майже всього періоду спостереження, досягаючи дефіциту в 70% в глії і 30-50% - в аксонах.

На ультраструктурному рівні в перші години помічався міжклітинний та внутрішньоклітинний набряк, що інколи супроводжувався розривом цитолем та внутрішньоклітинних мембран. Вміст органел значно зменшувався. Нуклеоплазма гліоцитів була набряклою. В подальшому ці явища наростали. На 10-14 добу у розвитку патологічного процесу спостерігався злам: зменшення деструктивних проявів та набрякості, поновлення нормальної щільності цито- та аксоплазми, підвищення кількості мітохондрій, везикулярних елементів. В основному, на 30-у добу відбувалось поновлення структури нервових волокон.

Таким чином, отримані дані дозволяють дійти висновку, що монобромацетат, як інгібітор гліколізу, лише в мінімальній концентрації чинив вибіркочу дію на вуглеводний обмін: зниження активності ЛДГ та СДГ, накопичення вуглеводів. Слід відзначити, що вказані зміни виникали передусім в глії, а потім в аксоплазмі. Середня та максимальна дози альтеранту викликали порушення інших ланок метаболізму: нуклеїнового та білкового. Структурні порушення зводились в основно-

му до гідропічних проявів. Відзначено найбільше ураження мембранних органел. У той же час рибосоми, тоно- і нейрофіламенти, нейротрубочки, а також ядерний хроматин були відносно стійкими до цього виду впливу.

Зроблено висновок, що всі три дози монобромацетату викликають зворотні структурно-метаболичні зміни волокон зорового нерва, незважаючи на деструкцію окремих гліоцитів та нервових волокон при максимальному впливові.

1.2. Актиноміцин Д. Використання актиноміцину Д в мінімальній дозі (0,05-0,1 мг/кг) викликало в першу чергу помірне зниження активності СДГ (до 25-30%), котре носило короткочасний характер (упродовж доби). До того ж зміни її рівня виникали в глії на кілька годин раніше, ніж в аксоплазмі. Зменшення рівня РНК та загального білка відзначалось пізніше, в середньому через 10-12 годин та поверталось до початкового рівня до кінця 2-ї доби. Вміст ЛДГ і вуглеводних сполук практично не відрізнявся від контрольних значень. Структурні зміни були незначними і зворотніми, відновлюючись уже до кінця 2-ї доби.

Середня доза актиноміцину Д (0,3 мг/кг) викликала більш виражені метаболичні прояви з боку зорового нерва. Пониження вмісту РНК відбувалось раніше в глії і до 12-ї години складало дефіцит у 30 %. В аксонах ці зміни були аналогічними і наприкінці доби досягали 25% із подальшою тенденцією до оновлення. Максимальне пониження сумарного білка відзначено у термін між 12-ю та 48-ю годинами до 30% в аксоплазмі та 35% - у глії. Спад активності ферментів ЛДГ та СДГ помічався, починаючи з 4-6 годин і досягав найменших значень до 12-ї години в середньому на 25% в аксонах та на 35% - в глії. Наприкінці 3-ї доби відбувалось поновлення вмісту усіх досліджуваних інгредієнтів.

Ультроструктурні зміни характеризувались більшою вираженістю: помічалась різка конденсація ядерного хроматину гліоцитів, пошкодження клітинних та внутрішньоклітинних мембран різного ступеня, підвищення щільності цитоплазматичного матриксу та аксоплазми. Однак, ці явища були зворотніми, супроводжуючись ознаками компенсаційно-відновних процесів: проясненням матриксу, збільшенням

органел, асоціацією рибосом у полісоми.

Найбільша концентрація актиноміцину Д (0,5-0,6 мг/кг) призводила до різко виражених цитохімічних та структурних порушень. Пониження вмісту РНК у клітинах реєструвалося вже через 2-4 години і упродовж 3-х діб падало наполовину без подальшої тенденції до оновлення. Практично в ці ж самі строки зменшувалась активність СДГ та загального білка без ознак відновлення. Активність ферменту ЛДГ також знижувалась практично вдвічі, починаючи з 2-4 годин до 6-12 години, зберігаючись на цьому рівні в аксоплазмі до кінця терміну спостереження. У глії ж її активність підвищувалась на 30% і на цьому рівні стабілізувалась. Порушення вмісту вуглеводних сполук було аналогічним змінам активності ЛДГ, але мали протилежний характер: збільшення їх концентрації починалось з 4-6 годин і, поступово зростаючи, досягало до кінця 3-ї доби 30% без подальших зворотніх змін. Ультраструктурні зрушення супроводжувались більшим ступенем деструктивних проявів.

Таким чином, тривалість і вираженість метаболічних та структурних проявів залежали від дози інгібітору.

Слід зазначити, що актиноміцин Д чинив вибірковий токсичний вплив на білковий обмін лише у найменшій дозі. Збільшення його концентрації призводило до поразки усіх ланок метаболізму, викликаючи зміни активності ферментів та вмісту вуглеводів. При електронно-мікроскопічному дослідженні характерними ознаками дії актиноміцину були ураження структур, що брали участь у білковому синтезі: зміни ядер за типом каріопікнозу, дисоціація полісом, деструкція цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки та ін.

Порівняльний аналіз ультраструктурних проявів, викликаних монобромацетатом та актиноміцином Д дозволив встановити відносну специфічність ураження для кожного з них.

2. ФАРМАКОДИНАМІКА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ

ПРИ ЇХ ВПЛИВІ НА ІНТАКТНИЙ ЗОРОВИЙ НЕРВ.

2.1. Екстракт алое. Курсове застосування екстракту алое

викликало певні зміни цитохімічних та ультраструктурних показників, про що свідчило підвищення вмісту сумарного білка і РНК в середньому на 30-40%, що супроводжувалось корелятивним збільшенням кількості рибосом і полісом у цитоплазмі глії. Зростаюча до 60% активність ферменту СДГ характеризувала інтенсивність проходження енергетичних процесів. Той факт, що кількість мітохондрій при цьому не змінювалась, дозволив припустити, що мітохондрії знаходились у стані підвищеної функціональної активності. Цим можна пояснити їх набрякання, що було особливо виразним на протязі першої доби та співпадало за часом з найбільш різкими коливаннями активності СДГ.

Зменшення вмісту вуглеводів, що стабільно й чітко визначалось поряд з переважно підвищеною активністю ЛДГ свідчило про переважання процесів гліколізу над процесами синтезу вуглеводів. За даними електронно-мікроскопічних досліджень апарат Гольджі та гладка ендоплазматична сітка знаходились у стані дещо підвищеної функціональної активності, на що вказувало розширення цистерн, посилення везикулярного компоненту тощо.

Комплексу вищенаведених цитохімічних та ультраструктурних даних, ураховуючи також відсутність ознак альтерації, дозволив припустити, що екстракт алое надавав стимулюючого впливу на проходження основних фізіологічних процесів у клітинах, особливо білоксинтезуючих та енергоутворюючих. Можливо, цей ефект зумовлено високим фізіологічним (оптимальним) вмістом біологічно активних речовин, що знаходяться в даному препараті (органічні кислоти, вітаміни, мікроелементи, тощо) та використовуються клітиною для більш повноцінного функціонування. Не можна, однак, заперечувати і можливість гуморального та неврогенного механізму впливу екстракту алое на тканини ока.

2.2. ЕНКАД - гідролізат рибонуклеїнової кислоти. Вплив ЕНКАД на структури зорового нерва, хоча й співпадав в загальних рисах із впливом екстракту алое, мав ряд особливостей. Зокрема, звертала на себе увагу виражена залежність метаболічних та структурних проявів від концентрації пре-

парату.

1-% розчин ЕНКАД викликав помірні та нетривалі (до 5-ти діб) метаболічні зміни при відносній бідності ультраструктурних проявів. Певно, деяке підвищення функціональної активності, виявлене цитохімічно, здійснювалось за рахунок наявного набору органел.

Найбільш оптимальними були цитохімічні та ультраструктурні зміни, зареєстровані після завершення курсового примінення 2%-го розчину ЕНКАД. Метаболічні порушення, більш виражені за ступенем та тривалістю (до 7-10 діб), супроводжувались характерними змінами внутрішньоклітинних структур. Значне збільшення вмісту РНК корелювало з ознаками активації білоксинтезуючого апарату клітин. Зокрема, характерними були зміни ядер: переважання диспергованого (активного) хроматину, збільшення площі контакту каріолеми з цитоплазмою за рахунок глибоких інвагінацій та скупчення в цих ділянках рибо- і полісом. Стійке, помірне і тривале зростання активності СДГ (показчик інтенсивності окислювально-відновних процесів) корелювало із збільшенням кількості мітохондрій. Всі ці зміни свідчили про виражену стимулюючу дію 2%-го ЕНКАД на функціональну активність мікроструктур зорового нерва. Однак, слід відзначити, що в періоди проявів підвищеної функціональної активності не помічалось морфологічних ознак напруження або виснаження клітин.

Застосування 3,5%-го розчину ЕНКАД мало свої особливості. Перехід ядерного хроматину в неактивний, конденсований, стан з вираженим зменшенням кількості рибосом і полісом у цитоплазмі, супроводжувався значним падінням вмісту РНК у перші три доби. Це дозволяє припустити, що надходження у клітину надмірної кількості екзогенних нуклеотидів спочатку пригнічувало процеси реплікації РНК з ДНК (за даними літератури воно відбувається при дифузному стані хроматину), та транспорт і-РНК у цитоплазму, виключаючи цим пригнічення синтезу білків у рибосомах. У сукупності всіх даних, гліюцити в перший час після завершення курсу знаходились у стані різкого подразнення.

Активация клітинних окислювально-відновних процесів

(про що свідчило збільшення активності СДГ майже вдвічі) напевне призводила до виснаження та альтерації пластичних фондів клітини, у результаті чого розвивались ознаки альтерації мітохондрій (набрякання, дезорганізація та часткова деструкція крист), набряк цитоплазми та мембранних внутрішньоклітинних утворень. Всі вказані зміни вели до виснаження пластичних та енергетичних резервів, що в результаті призводило до різкого спаду активності ферментів на 3-5 добу, вміст РНК продовжував залишатись низьким. Посилення лізосомальної реакції в цей період свідчило про підвищене зношування внутрішньоклітинних структур.

Разом з тим, виявлені негативні для життєдіяльності клітин явища носили зворотній характер: до 14-16 діб відбувалось відновлення вихідного статусу мікроструктур.

Таким чином, у результаті проведеного дослідження було встановлено, що найбільш оптимальною концентрацією ЕНКАД явилась 2-відсоткова. Тому саме вона була використана для вивчення сумісної дії препаратів алое та ЕНКАД.

Достатньо виражені структурні і метаболічні зміни аксонів, що спостерігались в досліджуваному матеріалі, можуть бути пояснені не стільки підвищенням функціональної активності наявних органел (досить малочисельних), скільки посиленням процесів аксоплазматичного транспорту, на що вказувала і підвищена везикуляція аксоплазми.

2.3. Сумісне застосування екстракту алое та ЕНКАД. Отримані електронно-мікроскопічні та цитохімічні дані по зміні структури і метаболізму зорового нерва після комбінованого застосування екстракту алое та 2%-го ЕНКАД дозволили дійти висновку, що саме таке їх сполучення надавало фармакорегулюючого впливу на проходження процесів обміну в клітинах. При цьому метаболічні та структурні прояви мали помірно виражений, монотонний та досить тривалий (до 30-ти діб) характер, що зумовлювало біологічний ефект від їх застосування. Цим можуть бути пояснені терапевтичні ефекти, що досягаються при використанні вказаних препаратів для лікування захворювань зорово-нервового апарату ока.

3. ВПЛИВ БІОГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ НА МОДЕЛЬОВАНІ ПОРУШЕННЯ СТРУКТУРИ І МЕТАБОЛІЗМУ ЗОРОВОГО НЕРВА

3.1. Протекторна дія. Проведеними дослідженнями встановлено, що інгібуюча дія низьких концентрацій монобромацетату та актиноміцину Д на метаболізм зорового нерва може бути усунутою або послабленою попереднім сумісним застосуванням препаратів екстракту алое і 2%-го ЕНКАД.

Так, курсове профілактичне введення цих препаратів запобігало розвитку токсичних пошкоджень, викликаних монобромоектовою кислотою. Вплив малими дозами альтеранту дещо послаблював стимулюючий ефект фармпрепаратів, однак не викликав ніяких токсичних проявлень. Тільки максимальна доза монобромацетату призводила до помірних короточасних порушень структури і метаболізму зорового нерва. Ознаки деякого пригнічення анаболічних процесів спостерігались лише у термін від 3-ї до 5-ї доби: зниження активності ферментів, зниження рівня загального білка та РНК, підвищення вмісту вуглеводів. В усіх випадках коливання цитохімічних показників не переважало 10-15% від вихідних значень.

Аналогічний ефект було одержано і при токсичній дії актиноміцину Д на фоні попереднього введення біологічно активних фармпрепаратів. Якщо антибіотик при впливові на інтактний зоровий нерв викликав більш тяжкі (у порівнянні з малими дозами монобромацетату) його ураження, а в максимальній дозі - незворотні, то при профілактичному застосуванні екстракту алое і ЕНКАД він тільки дещо пригнічував їх стимулюючий ефект. Лише вплив максимальної дози актиноміцину призводив до помітного токсичного пошкодження структури і хімізму зорового нерва. Так, зміни хімічних інгредієнтів по довготривалості і спрямованості не відрізнялись від контрольної серії дослідів, проте розмах цих коливань складав десь 1/3 від контролю.

Таким чином встановлено, що попереднє курсове застосування біологічно активних препаратів екстракту алое та ЕНКАД значно підвищувало метаболічну і структурну резистентність зорового нерва до пошкоджуючого впливу ток-

сичних речовин: монобромацетату і актиноміцину Д. При цьому рівень їх ефективності залежав від дози і особливостей конкретного альтеруючого агента.

3.2. Реактивуюча дія. Встановлено, що сумісне застосування препаратів екстракту алое та ЕНКАД компенсувало порушення, викликані пошкоджуючою дією різних доз монобромацетату, прискорюючи процеси відновлення хімізму та структури зорового нерва порівняно з контролем. Реактивуюча (відновлювальна) дія сумісного використання біофармпрепаратів виражалась в активізації компенсаційно-відновлювальних процесів, що приводило до більш ранньої та повноцінної регенерації пошкоджених структур зорового нерва.

При токсичному впливі малими дозами актиноміцину Д також виявлено картину інактивуючого та реактивуючого впливу біологічно активних препаратів, однак ступінь їх дії цілком залежав від дози. Застосування середньої і максимальної концентрацій антибіотику не змінювало характеру та вираженості цитохімічного ураження зорового нерва. Тем не менш, на ультраструктурному рівні в деяких випадках було виявлено ознаки активації білоксинтезуючого апарату клітинних елементів.

ВИСНОВКИ

1. При модельованій інтоксикації тварин монобромацетатом і актиноміцином Д цитохімічні і структурні порушення виявлялись у всіх компонентах зорового нерва. Характер та вираженість їх залежали від виду і концентрації інгібітору. Комплекс змін, що викликався інгібіторами, мав відносну специфічність, більш виражену при використанні малих доз. При дії монобромоцтової кислоти переважали гідропічні порушення з більш вираженою альтерацією мембранних органел. Антибіотик, навпаки, викликав ущільнення аксо- і гліоцитоплазми, деструкцію білоксинтезуючих органел, нейротрубочок і нейрофіламентів.

2. Встановлено, що у відповідну реакцію на введення препаратів екстракту алое і ЕНКАД включались усі компоненти зорового нерва. Характер та ступінь вираженості цитохімічних і ультраструктурних змін залежали від структурних особливостей конкретного утворення.

3. Курсове застосування препарату алое викликало активацію анаболічних процесів у клітинах зорового нерва шляхом впливу на їх білоксинтезуючий апарат.

4. Біологічна дія ЕНКАД залежала від його концентрації. Оптимальним по своїй біологічній дії був 2% розчин, який викликав активацію білоксинтезуючого апарату клітин, а також інтенсифікацію метаболізму з анаболічною спрямо-ванністю. Виявлено пригнічуючу дію 3.5%-го розчину ЕНКАД на білок-синтезуючий апарат нейрогліальних клітин.

5. Сумісне застосування екстракту алое з ЕНКАД (2%-им розчином) викликало більш виразний фармакологічний ефект, ніж кожен препарат зокрема та подовжувало тривалість постстимуляційного періоду в 2-2.5 рази.

6. Попереднє сумісне застосування препаратів екстракту алое та ЕНКАД підвищувало метаболічну резистентність зорового нерва до пошкоджуючої дії актиноміцину Д і монобромацетату, що виявлялось або в повній відсутності патологічних змін, або (в залежності від дози альтеранту) у менших по вираженості цитохімічних і структурних зсувах і більш швидкому їх відновленні.

7. Пошкоджуючий вплив субтоксичних концентрацій монобромацетату (1.5-2.0 мг/кг) і актиноміцину Д (0.05-0.1 мг/кг) на ультраструктуру і метаболізм зорового нерва може бути знешкоджено або послаблено лікувальним застосуванням комплексу препаратів екстракту алое і ЕНКАД.

8. Дано експериментальне обґрунтування для сумісного використання алое-ЕНКАД в комплексній терапії дистрофічних захворювань зорово-нервового апарату ока.

СПИСОК ДРУКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.

1. Влияние алоэ на резистентность зрительно-нервного аппарата глаза // Офтальмол. журн. - 1986. - № 8. - С. 52-56. (в соавт. с Н.Е. Думбровой, Е.П. Сотниковой).
2. Структурно-метаболические аспекты фармакологического действия некоторых биологически активных веществ на зрительный нерв в условиях токсического поражения // Вестник пробл. совр. медицины.- Харьков, 1995.- Вып.5.- С.3-7.
3. Действие ингибиторов метаболизма на некоторые цитохимические показатели зрительно-нервного аппарата глаза кроликов // Материалы научной конференции молодых ученых ОГУ, сер. "Биология". - Одесса, 1985. - С. 29-35. Рук. деп. в УкрНИИНТИ. (в соавт. с Л.В. Кучеренко, Н.В. Коноваловой, Э.А. Бормусовой).
4. Морфо-функціональні зміни зорово-нервового апарату ока під впливом алое // Матер. XII з'їзду Українського фізіологічного товариства. - Львів, 1986. - С.129-129. (у співавт. з Н.Є. Думбровою, О.П.Сотніковою).
5. Вплив інгібітора гліколізу на метаболізм сітківки кроля // Матер. XII з. УФТ. - Львів, 1986. С. 43-44. (у співавт. с О.А. Бормусовою, Н.В. Коноваловою, В.П.Плевінскісом).
6. Влияние некоторых ингибиторов метаболизма на цитохимические показатели сетчатки и зрительного нерва кролика // Матер. 5 Всес. междуниверситет. конф.: Биология клетки. - Тбилиси, 1987. - Т.1.- С. 460-461. (в соавт. с Э.А. Бормусовой, А.М. Солдатовой, П.В. Плевинскисом).
7. Комбинированное действие препаратов биогенного происхождения на цитохимические показатели зрительно-нервного аппарата кроликов // Матер. 5 Всес. междуниверситет. конф.: Биология клетки. - Тбилиси, 1987. - Т.1. - С. 462-463. (в соавт. с Е.П. Сотниковой, Н.В. Коноваловой, М.А. Чепеленко).
8. Влияние препаратов биогенного происхождения на метаболическую устойчивость сетчатки и зрительного нерва к токсическому поражению // Тез. докл. междузов-

- ской НПК мол. ученых. - Одесса, 1987. - Т.3. - С. 53-54. (в соавт. с Е.П. Сотниковой, Э.А. Бормусовой, Н.В. Коноваловой, М.А. Чепеленко).
9. Реактивирующее влияние некоторых биогенных препаратов на восстановительные процессы в условиях экспериментального токсического поражения зрительно-нервного аппарата глаза // Научная конференция молодых ученых ОГУ. - Одесса, 1988. - С. 97-99. (в соавт. с Н.Е. Думбровой, Е.П. Сотниковой, М.А. Чепеленко).
 10. Сочетанное влияние гидролизата РНК и алоэ на выраженность и продолжительность фармакологического эффекта зрительно-нервного аппарата глаза (цитохимическое и электронно-микроскопическое исследование) // Матер. 8 Всес. симп. по применению нукл. кислот в биологии и медицине. - Рига, 1989. - С. 44-45. (в соавт. с Н.Е. Думбровой, Е.П. Сотниковой).
 11. Компенсаторно-приспособительные реакции зрительно-нервного аппарата при действии на организм экстремальных раздражителей // Матер. III съезда анатомов, гистологов, эмбриологов Украины. - Черновцы, 19-21 сентября 1990. - С. 74-75. (в соавт. с Н.Е. Думбровой, В.П. Плевинским, Е.П. Сотниковой).
 12. Ультраструктурні особливості токсичного ураження зорового нерва // Матер. наук. конф., присв. 90-річчю з дня народження М.І. Зазибіна "Актуальні проблеми нейрогістології та нейроонтогенезу". - Київ, 1994. - С. 21. (у співавт. з Н.е. Думбровою, В.П. Плевінскісом, В.Ф. Пчеляковим).
 13. Вплив деяких біогенних препаратів на резистентність та відновлювальні процеси зорового нерва при токсичному ураженні // Тези доп. І нац. конгр. АГЕ та топографоанатомів України. - Ів.-Франківськ, 1994. - С. 47-47. (у співавт. з Н.е. Думбровою, В.П. Плевінскісом).
 14. Протекторное действие биологически активных веществ в условиях токсического поражения зрительного нерва // Материалы междунар. конф. "Актуальные аспекты органической патологии нервной системы". - Одесса, 1995.

- С. 179-181. (в соавт. с Е.П. Сотниковой, Н.Е. Думбровой, В.Ф. Пчеляковым).

15. Особенности ультраструктуры зрительного нерва интактного кролика // У зб. наук. робіт міжнародної конференції "Актуальні питання морфології", присв. пам"яті ЛДП України, ак., проф. С.А.Сморцка, Тернопіль, 1996 р.- Т. 1.-С. 185-186. (в соавторстве с Н.Е. Думбровой, В.Ф. Пчеляковым).

GORYANOVA N.A. PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF TOXIC IMPAIRMENT OF OPTIC NERVE

The thesis for obtaining the scientific degree of the Candidate of Medical Sciences in specialty 14.03.07 - Pharmacology. Science Research Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy named after Acad. V.P.Filatov of Ukraine Academy of Medical Sciences, Odessa State Medical University, Odessa, 1996.

15 scientific works are presented for defence containing the results of investigation of pharmacological effect of biologically active preparations of aloe extract and ENCAD on intact optic nerve and under the conditions of modelled toxic neuropathy. It was established that while effecting the intact optic nerve aloe and 2% ENCAD each increases protein - syntetic and energy-forming functions of glyocytes contributing to the increase of natural non-specific resistance. Combined use of these preparations grounded by their one-way action results in 2-2.5 times prolongation of post-stimulation period. Under the condition of animal intoxication with monobromacetic acid and actinomycin D the preliminary use of the biogenic preparations complex prevents effectively the development of characteristic pathologic processes at the expense of increasing stability of nervous tissue to toxic influences of inhibitors. The utilization of this preparation complex for therapeutic purpose turned to be effective in using it under the conditions of chronic intoxication. Earlier activation of compensatory-restoration processes is observed which results in more rapid (in 1.5-2 times) and in full value restoration of structure and metabolism of optic nerve.

ГОРЯНОВА Н.А. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.07-Фармакология, Одесский НИИ Глазных болезней и тканевой терапии АМН Украины, Одесский государственный медицинский университет, Одесса, 1996 г.

Защищается 15 научных работ, которые содержат результаты исследования фармакологического действия биологически активных препаратов экстракта алоэ и ЭНКАД на интактный зрительный нерв и в условиях моделированной токсической нейропатии. Установлено, что воздействуя на интактный зрительный нерв алоэ и 2% ЭНКАД, каждый в отдельности повышают белоксинтетическую и энергообразующую функции глиоцитов, способствуя повышению естественной неспецифической резистентности. Сочетанное применение этих препаратов, обоснованное однонаправленностью их действия, приводит к удлинению постстимуляционного периода в 2-2.5 раза. В условиях моделированной интоксикации животных монобромуксусной кислотой и актиномицином Д предварительное использование комплекса биогенных препаратов эффективно предупреждает развитие характерных патологических процессов за счет повышения устойчивости нервной ткани к токсическим влияниям ингибиторов. Использование данного комплекса препаратов с лечебной целью оказалось эффективным при использовании их в условиях хронической интоксикации. При этом наблюдается более ранняя активизация компенсаторно-восстановительных процессов, что приводит к более быстрому (в 1.5-2 раза) и полноценному восстановлению структуры и метаболизма зрительного нерва.

Ключові слова: екстракт алоє, ЕНКАД, токсичне ушкодження, зоровий нерв, лікувально-профілактична ефективність

Подписано к печати 27.08.96. Формат 60x84 1/16.
Объем 1,5 п.л. Заказ № 109. Тираж 100 экз.
Отпечатано МП "Соло"
Одесская обл., Б.-Днестровский, ул. Леона Попова, 2.

429307

AB 35.629