

УДК 615.322:582.794.1].015:613.816-092.9

ВЛИЯНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ КОРИАНДРА ПОСЕВНОГО НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОЙ И АЛКОГОЛЬНОЙ ГЕПАТОПАТИИ

Аракелян В.В.

Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Пятигорск, Россия (353532, Ставропольский край, Пятигорск, Калинина, 11), e-mail: nio.09@mail.ru

Изучено гепатопротекторное действие водного извлечения из травы кориандра посевного в опытах на крысах с четыреххлористым гепатозом и алкогольным поражением печени. В качестве объекта сравнения использовано аналогичное извлечение из кукурузных столбиков с рыльцами. Проведено сравнительное изучение влияния курсового введения извлечений в дозе 150 мг/кг на микроморфологическую картину печени и биохимические показатели функционального состояния печени у крыс с четыреххлористым и алкогольным гепатозом. Установлена способность водного извлечения из травы кориандра посевного существенно задерживать развитие цитолиза, холестаза, нарушений жирового и белкового обменов при поражении печени, а также антиоксидантная и анаболическая активность водного извлечения. Выявленная гепатопротекторная активность травы кориандра посевного, заключающаяся в коррекции антитоксической, экскреторной, желчеобразовательной и метаболической функций печени в условиях токсического повреждения печени, может служить экспериментальным обоснованием для разработки лечебного средства.

Ключевые слова: кориандр посевной, кукурузные столбики с рыльцами, водное извлечение, четыреххлористый и алкогольный гепатоз.

EFFECTS OF EXTRACTS FROM GRASS CORIANDER SEED METABOLIC AND HISTOMORPHOLOGICAL AT TETRACHLORID AND ALCOHOLIC HEPATOPATHY

Arakelyan V.V.

Piatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute-branch of the State Budgetari Educational Establishment of Higher Professional Education Volgograd State Medical University of the Ministry of Public Health Services of the Russian Federation (353532, Stavropol, Pyatigorsk, Kalinina 11), e-mai: nio.09@mail.ru

Studied hepatoprotective effect of aqueous extract of the herb coriander seed in rats tetrachloride hepatitis and alcoholic liver. As the object of comparison used a similar extraction of corn columns with stigmas. A comparative study of the influence of course administration extracts at 150 mg / kg for liver micromorphological picture and biochemical indices of the functional state of the liver in rats and alcoholic hepatitis tetrachloride. Installed capacity of a water extract of the herb coriander seed significantly delay the development of cytolysis, cholestasis, impaired fat and protein metabolism in liver injury, as well as antioxidant and anabolic activity of aqueous extract. Revealed hepatoprotective activity herb coriander seed, is to correct the antitoxic, excretory, chologenic and metabolic functions of the liver in terms of toxic liver damage, can serve as an experimental rationale for the development of the rapeuticagents.

Keywords: coriander seed, corn columns with stigmas, water extraction, and alcoholic tetrachloride hepatotoxicity.

Поражения печени являются широко распространенной патологией и занимают одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и смертности населения. Причинами развития заболеваний печени могут быть вирусы, токсические вещества, гормональные и токсические нарушения, неправильное питание, хронические болезни пищеварительной системы и др. [7]. В настоящее время одним из наиболее рациональных методов лечения заболеваний печени принято считать фитотерапию, так как использование гепатопротекторов растительного происхождения обусловлено их высокой биологической активностью и относительной безвредностью [2]. Их лечебный эффект при токсических поражениях печени обусловлен

преимущественно фенольными соединениями (флавоноидами, кумаринами, фенолкарбоновыми кислотами и др.), обладающими широким спектром биологического действия, включая антиоксидантные, мембраностабилизирующие, антитоксические и репаративные эффекты [4]. Исследование биологического действия фенольных соединений и растений, их содержащих, представляет научный и практический интерес. Одним из таких перспективных растительных объектов для получения гепатопротекторных средств может служить трава кориандра посевного, в которой содержатся флавоноиды, кумарины, фенолкарбоновые кислоты, микроэлементы и ряд других биологически активных веществ [6].

Цель исследования

Экспериментально обосновать целесообразность применения при токсическом гепатозе извлечений из травы кориандра посевного, содержащего флавоноиды, кумарины, фенолокислоты, витамины и ряд других биологически активных веществ.

Материал и методы исследования

Водные извлечения из травы кориандра посевного получены согласно фармакопее XI. В состав комплекса веществ входят флавоноидные соединения (апигенин, лютеолин, кверцетин и др.), кумарины, фенолкарбоновые кислоты, органические кислоты, витамины и другие биологически активные вещества [6]. В качестве препарата сравнения использовали водные экстракты из кукурузных столбиков с рыльцами.

Суммарный комплекс веществ извлечений вводили животным в течение двух недель перорально с помощью металлического зонда в объеме 1 мл водного раствора на 100 г массы тела, что соответствовало 150 мг/кг в пересчете на сухой остаток. Эта доза экстрактов была выбрана на основе результатов анализа его токсических свойств путем определения на интактных крысах острой токсичности по Керберу [1] и гепатотоксичности по В.В. Гацура [3] с учетом рекомендаций фармакологического комитета по изучению общетоксического действия фармакологических средств [8].

Токсическая гепатопатия воспроизводилась с помощью четыреххлористого углерода [9] или спирта этилового [10]. В первом случае с этой целью на второй неделе применения извлечений (в контрольных опытах – дистиллированной воды) трехкратно через день перорально металлическим зондом крысе вводили 50 % раствор четыреххлористого углерода (CCl₄) в вазелиновом масле по 0,3 мл на 100 г массы животного. С целью развития алкогольной гепатопатии животным с конца первой недели опытов в течение семи дней перорально вводили 33 % раствор этанола из расчета 0,75 мл на 100 г массы тела [10].

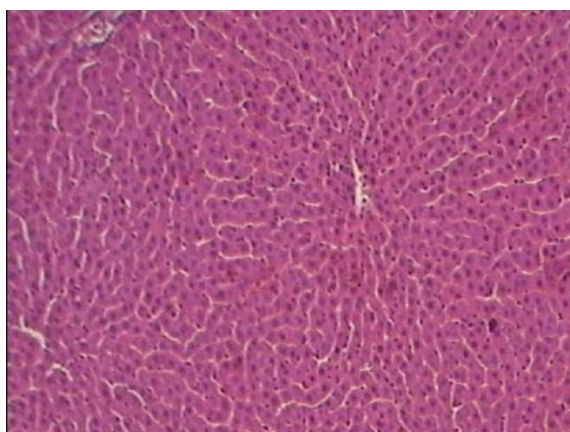
По завершении введения извлечений животных декапитировали под легким эфирным наркозом и забирали для исследования кровь и печень. Часть печени помещали в 5 % раствор

формалина. Срезы ткани печени готовили общепринятым методом заливки в парафиновые блоки, окраску проводили гематоксилин-эозином. Изучение гистологических срезов проводили с использованием светового микроскопа ЛОМО при увеличениях $\times 160$ в проходящем свете. Снимки срезов производили на компьютеризированном микроскопе. Для морфометрических измерений использовали компьютерную программу для анализа изображений ImageJ 1.4. В сыворотке крови определяли содержание альбуминов, общего холестерина, общего билирубина, общего белка, триглицеридов с помощью автоматического биохимического анализатора BS-120 (Minzeu, Китай) со стандартным набором реактивов (Diasis, Германия). Кроме того, в сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание ТБК-активных продуктов общепринятыми методами.

В печени определяли содержание гликогена по реакции с фенолом после щелочного гидролиза гликогена, содержащегося в определенной навеске печени, и выражали в г/кг. Полученные результаты обрабатывались методом вариационной статистики по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что у интактных животных микроморфологическая картина печени в целом соответствовала нормальным вазоцитарным взаимоотношениям в строении печеночной дольки (рис.1), равно как и уровень биохимических показателей соответствовал нормальным величинам, что видно из таблиц 1 и 2.

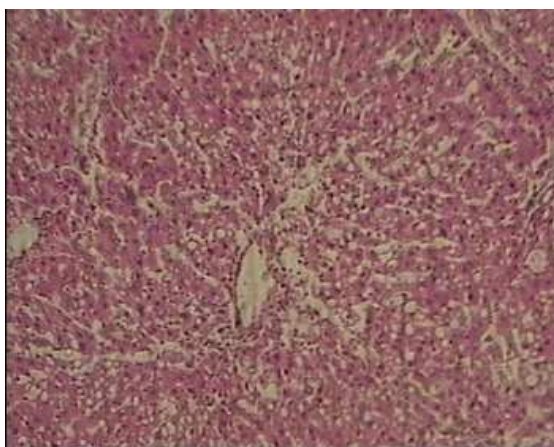


(увеличение 160)

Рис.1. Микроморфологическая картина печеночной дольки у интактных животных

Иная картина наблюдалась у животных контрольной группы с четыреххлористым и алкогольным гепатозом. На гистологических срезах печени у животных с четыреххлористым гепатозом отмечалось резкое нарушение структуры печеночных долек (рис. 2). В отдельных гепатоцитах имелась конденсация нуклеофильного вещества в сочетании с плазмореक्सисом и плазмолизом. Цитолитические процессы были выражены во всех трех зонах ацинуса, но

преимущественно – в центролобулярной зоне печеночной дольки. Эндотелиальные клетки в этих участках оказались набухшими. В средних зонах печеночных ацинусов видны были слияния пораженных паренхиматозных клеток с образованием жировых «кист», что свидетельствовало о жировой трансформации гепатоцитов. Структуризация печеночных балок нарушалась практически во всех отделах печеночной дольки. Определялась лимфоцитарная инфильтрация. Инфильтрат выходил за пределы пограничной пластинки. Формировались очаговые ступенчатые некрозы с тенденцией к образованию мостовидных портопортальных некрозов.



(увеличение 160)

Рис. 2. Микроморфологическая картина печеночной дольки у животных с четыреххлористым гепатозом

У животных контрольной группы с алкогольным гепатозом на гистологических срезах печени наблюдалось перивенулярное центролобулярное поражение гепатоцитов. В отдельных гепатоцитах имелась конденсация нуклеофильного вещества в сочетании с кариорексисом и плазмолизом. Некроз гепатоцитов имелся преимущественно в центре печеночных долек, в цитоплазме клеток появились вакуоли различной величины, клетки были увеличены в размерах, цитоплазма их была просветлена. Вместе с тем массового некроза клеток печени не наблюдалось. Определялось нарушение балочной структуры печеночных долек, резкая гиперемия центральных вен и кровеносных сосудов триад. Пространства Диссе были резко расширены (рис. 3). Признаков жирового стеатоза в гепатоцитах не отмечалось.

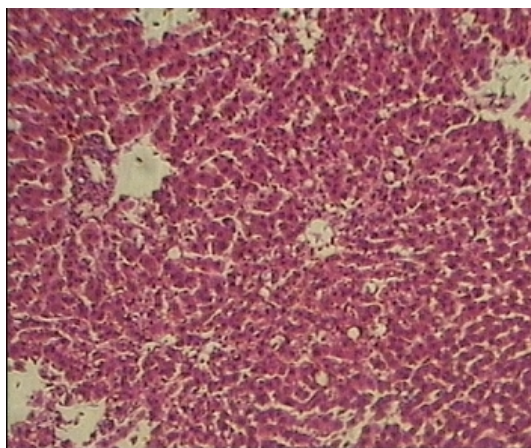


(увеличение 160)

Рис. 3. Микроморфологическая картина печеночной дольки у животных с алкогольным гепатозом

Гисто-морфологические нарушения в печени сочетались с существенными нарушениями биохимических показателей (таблица 1 и 2): у животных с четыреххлористым гепатозом в сыворотке крови отмечалось снижение содержания альбуминов, общего белка, повышение содержания общего билирубина, общего холестерина, триглицеридов, активности АлТ, щелочной фосфатазы, ТБК – активных продуктов, снижение содержания гликогена в печени; у животных с алкогольным поражением печени в сыворотке крови отмечалось снижение содержания альбуминов, общего белка, повышение содержания общего билирубина, общего холестерина, триглицеридов, активности АлТ, щелочной фосфатазы, ТБК – активных продуктов, а также снижение содержания гликогена в печени.

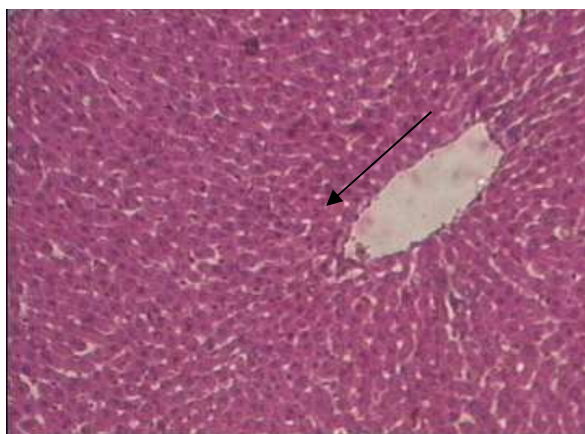
В группе животных с четыреххлористым гепатозом, получавших водное извлечение из кориандра, нарушение балочной структуры гепатоцитов было выражено умеренно (рис. 4). Наблюдалась некоторая декомплектация печеночных балок преимущественно в перипортальных зонах ацинуса. Количество гепатоцитов, находящихся в состоянии крупнокапельной жировой дистрофии, значительно уменьшилось по сравнению с контролем. Дистрофические изменения в большинстве других клеток ограничивались стадией мутного набухания, исчезновением зернистости, умеренным количеством клеток с признаками кариорекса и кариолизиса. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал их снижение относительно контроля (100 %) до 32 ± 4 % ($P < 0,05$). Расширение синусоидов, полнокровие центральных вен и сосудов портальных трактов в данной группе были выражены умеренно.



(увеличение 160)

Рис. 4. Микроморфологическая картина печеночной дольки у животных с четыреххлористым гепатозом, получавших водное извлечение кориандра посевного

В группе животных с алкогольным поражением печени, получавших извлечение из кориандра, в отличие от контрольных, нарушение балочной структуры гепатоцитов было выражено умеренно (рис. 3). Балочная структура долек в целом была сохранена. Центральные вены и кровеносные сосуды триад были без признаков гиперемии, свободны от содержимого. Определялась умеренная лимфоцитарная инфильтрация и активация пролиферативных процессов в зонах центральных вен (рис. 5). Гиперемии сосудов и диапедезных периваскулярных кровоизлияний не наблюдалось. Отмечались единичные клетки в состоянии гидропической дистрофии.

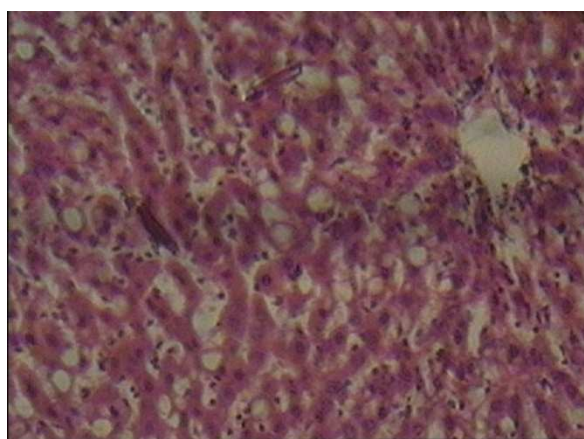


(увеличение 160)

Рис. 5. Микроморфологическая картина печеночной дольки у животных с алкогольным гепатозом, получавших водное извлечение кориандра посевного

Степень морфологических изменений в печени в группе животных с четыреххлористым гепатозом, получавших водное извлечение из кукурузных столбиков с рыльцами, примерно соответствовало описанному выше (рис. 6). В срезах неравномерный

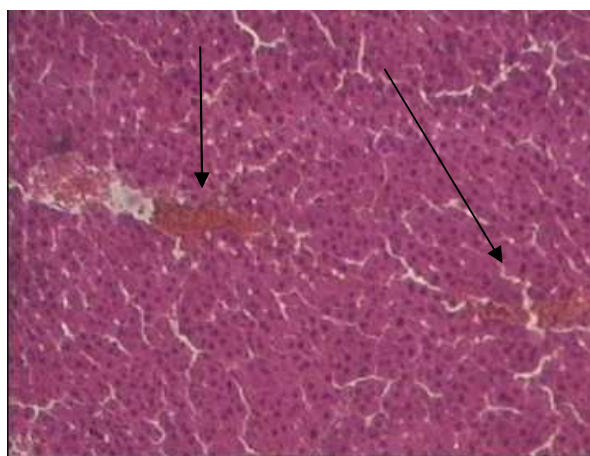
слабый аутолиз. Неравномерное кровенаполнение синусоидных капилляров, варьирующее от слабого и слабо-умеренного кровенаполнения их до очагового полнокровия. Балочно-радиарное строение долек начинает стираться на фоне умеренно выраженной очагово-диффузной крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. Остальные печёночные клетки в состоянии умеренной мелкокапельной жировой дистрофии. Портальные тракты практически не расширены, в строме ряда из них очаговая умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация с единичными сегментоядерными лейкоцитами. Морфометрический подсчет количества жировых клеток на стандартной площади среза показал недостоверность различия относительно группы, получавшей извлечение из кориандра ($P_3 > 0,05$). Изменения биохимических показателей соответствовали динамике микроморфологической картины печени.



(увеличение 160)

Рис. 6. Микроморфологическая картина печеночной дольки у животных с четыреххлористым гепатозом, получавших водное извлечение из кукурузных столбиков с рыльцами

В группе животных с алкогольным гепатозом, получавших в качестве лечения водное извлечение из кукурузных столбиков с рыльцами, наблюдались аналогичные контрольной группе микро-морфологические изменения в печени, однако они были выражены в меньшей степени, чем в контрольной группе, и близки к изменениям в группе животных, получавших извлечение из травы кориандра (рис. 7).



(увеличение 160)

Рис. 7. Микроморфологическая картина печеночной дольки у животных с алкогольным гепатозом, получавших извлечение из кукурузных столбиков с рыльцами

Изменения биохимических показателей в крови и печени в общем соответствовали динамике микроморфологической картины печени. Уровень гликогена в печени, содержание в крови триглицеридов, холестерина, ТБК-активных продуктов, альбуминов, активность АлТ, ЩФ у животных, получавших извлечение из кориандра, проявили тенденцию к нормализации.

Таблица 1

Влияние курсового ведения извлечений из травы кориандра посевного на биохимические показатели функционального состояния печени крыс с четыреххлористым гепатозом

№	Группы Животных	Альбумины крови, г/л	Общий белок крови, г/л	Общий билирубин крови мкмоль/л	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды крови, ммоль/л	АлТ крови, мккат/л	ЩФ крови, Ед/л	ТБК-активные продукты плазмы крови, мкмоль/л	Гликоген, г/кг
1	Интактные животные n = 9	33,6±1,00	91,5±1,95	5,3±0,22	1,9±0,20	0,8±0,08	0,48±0,150	226,3±22,00	2,85±0,540	2,94±0,242
2	Контрольные (гепатоз+ дист. вода) n = 7	32,8±0,70 P ₁ >0,05	66,6±5,10 P ₁ <0,01	34,6±1,26 P ₁ >0,05	2,7±0,35 P ₁ <0,05	2,0±0,40 P ₁ <0,05	0,99±0,035 P ₁ <0,02	409,6±60,50 P ₁ <0,05	7,84±0,486 P ₁ <0,001	1,53±0,069 P ₁ <0,001
3	Получавшие водное извлечение кориандра, n = 8	38,8±1,20 P ₁ <0,05 P ₂ <0,01	80,8±1,48 P ₁ <0,01 P ₂ <0,05	23,5±2,53 P ₁ <0,001 P ₂ <0,02	1,6±0,20 P ₁ >0,05 P ₂ <0,05	0,5±0,06 P ₁ <0,05 P ₂ <0,01	0,63±0,060 P ₁ >0,05 P ₂ <0,01	233,0±28,10 P ₁ >0,05 P ₂ <0,05	5,83±0,140 P ₁ <0,001 P ₂ <0,01	5,36±0,580 P ₁ <0,01 P ₂ <0,001
5	Получавшие водное извлечение кукурузных столбиков с рыльцами, n = 6	34,0±1,50 P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	84,0±3,07 P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	25,2±2,30 P ₁ <0,001 P ₂ <0,02 P ₃ >0,05	2,3±0,50 P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	0,5±0,10 P ₁ >0,05 P ₂ <0,02 P ₃ <0,05	0,53±0,128 P ₁ >0,05 P ₂ <0,02 P ₃ >0,05	242,5±29,00 P ₁ >0,05 P ₂ <0,05 P ₃ >0,05	3,16±0,418 P ₁ >0,05 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001	3,34±0,173 P ₁ >0,05 P ₂ <0,001 P ₃ <0,02

Примечание:

n – количество опытов;

P_1 – вероятность различия к группе интактных животных;

P_2 – вероятность различия к контрольной группе животных;

P_3 – вероятность различия по отношению к группе животных, получавших водное извлечение из кориандра посевного.

Таблица 2

Влияние водного извлечения из травы кориандра посевного на биохимические показатели функционального состояния печени крыс при алкогольном поражении печени

№ п/п	Серии опытов	Альбумины крови, г/л	Общий белок крови, г/л	Общий билирубин крови, мкмоль/л	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды крови, ммоль/л	АлТ крови, мккат/л	ЩФ крови, Ед/л	ТБК-активные продукты крови, мкмоль/л	Гликоген, г/кг
1	Интактные животные n=9	33,6±1,00	91,5±1,95	5,3±0,22	1,9±0,020	0,80±0,080	0,48±0,050	226,3±22,00	2,85±0,540	2,94±0,024
2	Контроль животных с гепатопатией, получавшие дист.воду) n=9	30,9±0,20 $P_1<0,05$	65,7±1,91 $P_1<0,001$	14,7±0,46 $P_1<0,001$	2,1±0,050 $P_1<0,05$	1,01±0,037 $P_1<0,05$	0,66±0,015 $P_1<0,05$	314,0±12,10 $P_1<0,05$	5,44±0,220 $P_1<0,01$	2,62±0,0509 $P_1<0,05$
3	Животные с гепатопатией, получавшие водное извлечение кориандра n=9	31,3±0,06 $P_1<0,05$ $P_2>0,05$	68,0±1,06 $P_1<0,001$ $P_2>0,05$	10,5±0,18 $P_1<0,001$ $P_2<0,001$	1,88±0,040 $P_1>0,05$ $P_2<0,05$	0,73±0,040 $P_1>0,05$ $P_2<0,05$	0,59±0,023 $P_1<0,05$ $P_2<0,05$	264,6±10,6 $P_1>0,05$ $P_2<0,05$	3,46±0,115 $P_1>0,05$ $P_2<0,001$	3,45±0,264 $P_1<0,05$ $P_2<0,05$
4	Животные с гепатопатией, получавшие водное извлечение сукурузных столбиковс рьльцямиn=9	33,7±0,50 $P_1>0,05$ $P_2<0,001$ $P_3<0,001$	71,4±0,93 $P_1<0,001$ $P_2<0,05$ $P_3>0,05$	12,0±0,31 $P_1<0,001$ $P_2<0,01$ $P_3<0,01$	1,85±0,080 $P_1>0,05$ $P_2<0,05$ $P_3>0,05$	0,70±0,070 $P_1>0,05$ $P_2<0,05$ $P_3>0,05$	0,65±0,019 $P_1<0,05$ $P_2>0,05$ $P_3<0,05$	270,4±16,2 $P_1>0,05$ $P_2>0,05$ $P_3>0,05$	3,55±0,127 $P_1>0,05$ $P_2<0,001$ $P_3>0,05$	3,15±0,154 $P_1>0,05$ $P_2<0,05$ $P_3>0,05$

Примечание:

n – количество опытов;

P_1 – вероятность различия к группе интактных животных;

P_2 – вероятность различия к контрольной группе животных;

P_3 – вероятность различия по отношению к группе животных, получавших водное извлечение из кориандра посевного.

У животных, получавших извлечение из кориандра посевного в эксперименте с четыреххлористым гепатозом, содержание триглицеридов по сравнению с контролем понизилось на 75 % ($p<0,01$), общего билирубина на 32,1 % ($p<0,02$), общего холестерина на 40,8 % ($p<0,05$), ТБК-активных продуктов на 25,7 % ($p<0,01$), снизилась активность АлТ на 36,4 % ($p<0,01$), ЩФ – на 43,2 % ($p<0,05$), тогда как содержание альбуминов увеличилось на 18,3 % ($p<0,01$), общего белка на 21,3 % ($p<0,05$), а в печени повысилось содержание гликогена на 250,3 % ($p<0,001$). Изменения показателей у животных, получавших водное

извлечение из кукурузных столбиков с рыльцами, приближались к таковым у животных, получавших извлечение из кориандра. Однако изменения в содержании гликогена в печени и активность ЩФ характеризовались меньшей степенью нормализации, чем в опытах с извлечением из кориандра.

Введение животным при курсовой алкоголизации водного извлечения кориандра посевного способствовало по сравнению с контролем понижению содержания триглицеридов на 27,7 % ($p < 0,05$), общего билирубина на 28,6 % ($p < 0,001$), общего холестерина на 10,5 % ($p < 0,05$), ТБК-активных продуктов на 36,4 % ($p < 0,01$), снижению активности АлТ на 10,6 % ($p < 0,05$), ЩФ – на 15,7 % ($p < 0,05$), а также повышению содержания гликогена в печени на 31,6 % ($p < 0,05$). Снижение содержания ТБК-активных продуктов под влиянием водного извлечения из кориандра свидетельствует об уменьшении интенсивности процессов свободнорадикального окисления, что может быть связано с антиоксидантным действием фенольных соединений, содержащихся в извлечении [5].

Заключение

Динамика гистоморфологической картины печени и биохимических показателей свидетельствует, что суммарный комплекс веществ водного извлечения из травы кориандра посевного снижает глубину поражения печени при ее токсическом повреждении. Этот эффект по некоторым показателям превышает аналогичное влияние извлечений из кукурузных столбиков с рыльцами. Учитывая состав веществ комплекса водного извлечения из кориандра посевного, можно полагать о существенной роли антиоксидантного действия в его лечебном эффекте.

Список литературы

1. Беленький Л.М. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Гос. изд. мед. литературы, 1963. – 324 с.
2. Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Фитопрепараты и печень // Фарматека. – 2006. – № 1. – С. 85-88.
3. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – М.: Медицина, 1974. – С. 125-126.
4. Доркина Е.Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 41-45.
5. Ильина И.Г., Рудакова И.П., Самылина И.А. Антиоксиданты: фармацевтические и биохимические аспекты применения // Фармация. – 2013. – № 8. – С. 3-6.

6. Оганесян Э.Т., Нерсесян З.М., Пархоменко А.Ю. Изучение химического состава травы кориандра посевного // Хим-фармац. ж. – 2007. – Т. 41, № 3. – С. 30-34.
7. Полонский. В.М. Применение препарата ЛИВ.52 при токсических, алкогольных и лекарственных поражениях печени // Фарматека. – 2005. – № 7. – С.23-29.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000. – 398 с.
9. Саркисов Д.С., Ремизов П.И. Воспроизведение болезней человека в эксперименте. – М., 1960. – 780 с.
10. Спрыгин, В.Г. Влияние комплексного полифенольного препарата «Калифен» на процессы восстановления биохимических показателей печени после поражения этиловым спиртом / В.Г. Спрыгин, Н.Ф. Кушнерова // Вопр. биол. мед. и фармац. химии. – 2002. – № 4. – С. 22-26.

Рецензенты:

Погорелый В.Е., д.б.н., профессор кафедры фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО «Волгоградского государственного медицинского университета» Минздрава России, г. Пятигорск.

Попова О.И., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО «Волгоградского государственного медицинского университета» Минздрава России, г. Пятигорск.