

## Зміст

### ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Губський Ю.І., Литвинова Н.В., Левицький Є.Л.,  
Овруцький В.М., Пасечник М.Ф., Марченко  
О.М., Даниленко В.Ф., Горюшко Г.Г.,  
Примак Р.Г., Курська Н.М., Бабенко Л.П.

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ АМІЗОН НА СТАН  
УШКОДЖЕНИХ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОМ  
ХРОМАТИНУ ТА МЕМБРАН КЛІТИН  
ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

5

Самохіна Л.М., Гольдрин Є.М., Коваль С.М.  
СИСТЕМА ПРОТЕІНАЗА-ІНГІБІТОР  
ПРОТЕІНАЗ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ  
ХВОРОБУ ПІД ВПЛИВОМ АНТИГІПЕР-  
ТЕНЗИВНОЇ ТЕРАПІЇ

11

Луговий Б.Л., Юкало В.Г., Гнатюк М.С.  
АНТИГІПЕРТЕНЗИВНА АКТИВНІСТЬ  
ОЛІГОПЕПТИДНИХ ПРЕПАРАТІВ,  
ОТРИМАНИХ ПРИ ПРОТЕОЛІЗІ  $\beta$ -КАЗЕЇНУ  
ЛАКТОКОКАМИ, У ЩУРІВ З АРТЕРІАЛЬ-  
НОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

16

Каліман П.А., Оксененко С.В., Загайко А.Л.  
ПЕРОКСИДНІ МОДИФІКАЦІЇ  
ЛІПОПРОТЕЇНІВ ТА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ  
АТЕРОГЕНЕЗУ В ЩУРІВ ПРИ ОКСИ-  
ДАТИВНОМУ СТРЕСІ, ВИКЛИКАНОМУ  
ВВЕДЕННЯМ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ

20

Гудима А.А., Гусак О.М. ПОРІВНЯЛЬНА  
ЕФЕКТИВНІСТЬ МАГНІТОЛАЗЕРНОГО  
ВИПРОМІНЮВАННЯ У РІЗНИХ ДОЗАХ В  
УМОВАХ КОРЕКЦІЇ ГОСТРОГО ТОКСИЧ-  
НОГО УРАЖЕННЯ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОМ

28

Цебржинський О.І. МОДИФІКАЦІЯ ОСНОВ  
ДНК ПРИ РІЗНИХ ДЖЕРЕЛАХ АКТИВНИХ  
ФОРМ КИСНЮ В ПЕЧІНЦІ ПРИ ЕКСПЕРИ-  
МЕНТАЛЬНИХ ІНТОКСИКАЦІЯХ

33

Корда І.В., Маланчук Л.М., Корда М.М.  
ПРОФІЛАКТИКА ПОРУШЕНЬ ОКИСЛЮ-  
ВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ЖІНОК ПІСЛЯ  
ОПЕРАЦІЇ КЕСАРЕВОГО РОЗТИНУ ЗА  
ДОПОМОГОЮ ПОЄДНАНОГО ЗАСТО-  
СУВАННЯ ЗІНАЦЕФУ І ФЛУРЕНІЗИДУ

37

Корильчук Т.Б. ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМБІНО-  
ВАНОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІСОРБУ,  
ПРЕПАРАТУ "СЕЛЕН-ХЕЛАТ", ТРЕКРЕЗАНУ  
І ЕСБЕРІТОКСУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ  
ПЕЧІНКОВО-НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ  
ХІМІЧНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

41

### КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

Новікова С.М., Кузнєцов В.В., Глазовська І.І.  
ДИСЛІПОПРОТЕЇНЕМІЇ В ОСІБ ІЗ ВИСОКИМ  
ГЕНЕТИЧНИМ РИЗИКОМ РОЗВИТКУ  
ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

45

## Contents

### ORIGINAL INVESTIGATIONS

Hubskiy Yu.I., Litvinova N.V., Levytsky Ye.L.,  
Ovrutskiy V.M., Pasechnyk M.F., Marchenko A.N.,  
Danylenko V.F., Horiushko A.H., Prymak R.H.,  
Kurskaya N.M., Babenko L.P. REMEDY AMIZON

INFLUENCE ON THE STATE OF DAMAGED  
BY TETRACHLOROMETHANE CELLS  
MEMBRANES AND CHROMATIN OF THE RAT  
LIVER

Samokhina L.M., Holdryn Ye.M., Koval S.M.

THE PROTEINASE-PROTEINASE INHIBITOR  
SYSTEM IN PATIENTS WITH HYPERTENSION  
UNDER ANTIHYPERTENSIVE THERAPY

Luhovyy B.L., Yukalo V.G., Hnatyuk M.S.

ANTYHYPERTENSIVE ACTIVITY OF  
OLIGOPEPTIDES DERIVED AFTER  
PROTEOLYSIS OF  $\beta$ -CASEIN BY  
LACTOCOCCI ON HYPERTENSIVE RATS

Kaliman P.A., Oksenenko S.V., Zagayko A.L.

RAT LIPOPROTEIN PEROXIDATIVE  
MODIFICATIONS AND SOME INDICES OF  
ATHEROGENESIS AT OXIDATIVE STRESS  
CAUSED BY ADMINISTRATION OF COBALT  
CHLORIDE

Hudyma A.A., Husak O.M. COMPARATIVE

EFFECTIVENESS OF DIFFERENT-DOSED  
MAGNETOLASER IRRADIATION UNDER  
CONDITION OF CORRECTION OF ACUTE  
TOXIC DAMAGE BY TETRACHLOROMETHANE

Tsebrzhynsky O.I. MODIFICATION OF THE DNA

BASES AT DIFFERENT SOURCES OF ACTIVE  
OXYGEN FORMS IN THE LIVER AT  
EXPERIMENTAL INTOXICATION

Korda I.V., Malanchuk L.M., Korda M.M.

PROPHYLAXIS OF THE VIOLATIONS OF  
OXIDATIVE PROCESSES IN WOMEN AFTER  
CESAREAN SECTION BY THE COMBINED  
USING OF ZINACEF AND FLURENIZID

Korylchuk T.B. THE EFFECTIVENESS OF

COMBINED APPLICATION OF POLYSORB,  
MEDICINE "SELEN-HELAT", TRECRESAN  
AND ESBERITOCES AT EXPERIMENTAL  
HEPATO-RENAL INSUFFICIENCY OF  
CHEMICAL ETIOLOGY

### BRIEF REPORTS

Novikova S.N., Kuznetsov V.V., Glazovskaya I.I.

DYSLIPOPROTEINEMIAS IN PATIENTS WITH  
A HIGH GENETIC RISK OF ISCHEMIC  
STROKE DEVELOPMENT



<i>Панчишин Н.Я., Гонський Я.І., Белей Л.І.</i> ПРО ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ ВОВЧАКОВОЇ НЕФРОПАТІЇ	48	<i>Panchyshyn N.Ya., Honsky Ya.I., Beley L.I.</i> ABOUT RESULTS OF LUPUS NEPHRITIS TREATMENT BY DIFFERENT METHODS OF LUPUS NEPHRITIS
<i>Локай В.А.</i> ЗМІНИ ВМІСТУ МЕТАБОЛІТІВ ГЛІКОЛІЗУ В КРОВІ, ІНКУБОВАНИЙ З ОТРУТОЮ БЛІДОЇ ПОГАНКИ І ПЕНІЦИЛІНОМ	51	<i>Lokai V.A.</i> CHANGES OF CONTENTS OF GLYCOLYSIS METABOLITES IN BLOOD INCUBATED WITH AMANITA PHALLOIDES POISON AND PENICILLIN-G
<i>Іванушко Я.Г.</i> СТАН ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМИ ТА ОКИСЛЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ	54	<i>Ivanushko Ya.G.</i> THE INFLUENCE OF LASER RADIATION ON THE FIBRINOLYSIS SYSTEM AND LIPID PEROXIDATION OF RAT LIVER
<i>Чернищенко Т.І.</i> ВПЛИВ ЕНТЕРОСГЕЛЮ НА ВНУТРІШНЬОКЛІТИННУ РЕГЕНЕРАЦІЮ НЕЙРОНІВ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ТЯЖКІЙ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ	57	<i>Chernyshenko T.I.</i> ETROSSEL INFLUENCE ON INTRACELLULAR REGENERATION OF CEREBRAL CORTEX NEURONS IN SEVERE BURN INJURY
<i>Григус І.М.</i> ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕРАПІЇ ТА МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ ОСІБ ІЗ ХВОРОБАМИ ОПЕРОВАНОГО ШЛУНКА	59	<i>Grygus I.M.</i> EFFICACY OF THERAPY AND MEDICAMENTOUS REHABILITATION OF THE PATIENTS WITH OPERATED STOMACH DISEASES
<i>Радецька Л.В., Сливка Ю.І.</i> ДИНАМІКА ЗАГАЛЬНОКЛІНІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ В ПРОЦЕСІ РОЗВАНТАЖУВАЛЬНО-ДІЄТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ	62	<i>Radetska L.V., Slyvka Y.I.</i> DYNAMICS OF GENERAL CLINICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD INDICES IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE IN THE PROCESS OF FASTING-DIETETIC THERAPY
<i>Максим'юк Г.В., Воробець З.Д., Беседін В.М.</i> СПІВВІДНОШЕННЯ ВМІСТУ ІОНІВ $Ca^{2+}$ , $Na^{+}$ , $K^{+}$ І КОНЦЕНТРАЦІЯ СПЕРМІЇВ У СПЕРМІ ЧОЛОВІКІВ	65	<i>Maksymyuk H.V., Vorobets Z.D., Besedin V.M.</i> $Ca^{2+}$ , $Na^{+}$ , $K^{+}$ IONS CONTENTS RATIO AND SPERMATOZOA CONCENTRATION IN HUMAN SPERM
<i>Горішна О.В., Горішний Б.М.</i> ВПЛИВ ГАММА- ОПРОМІНЮВАННЯ І НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ПЕЧІНКИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ	68	<i>Horishna O.V., Horishny B.M.</i> THE INFLUENCE OF THE GAMMA-IRRADIATION AND NITRATE INTOXICATION ON ENERGETIC METABOLISM OF THE LIVER DEPENDING ON THE AGE
<i>Крицький І.О.</i> ВПЛИВ ШОКОГЕННИХ ФАКТОРІВ НА МОРФОГЕНЕЗ І РЕГЕНЕРАЦІЮ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА МОЖЛИВІСТЬ ЇХ КОРЕКЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕСУЛІДУ	70	<i>Krycky I.O.</i> SHOCKOGEN FACTORS INFLUENCE ON THE MORPHOGENESIS AND REGENERATION OF BONE TISSUE AND POSSIBILITY OF THEIR CORRECTION BY MEANS OF MESULID
<b>МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>		<b>METHODS OF BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS</b>
<i>Мазепа А.І., Мазепа І.В.</i> ВИКОРИСТАННЯ ПЛАЗМОВОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАЛІВ У БІОЛОГІЧНИХ ЗРАЗКАХ	72	<i>Mazepa A.I., Mazepa I.V.</i> PLASMATIC SPECTROPHOTOMETRY APPLICATION FOR INVESTIGATION OF METALS IN BIOLOGICAL SPECIMENS
<b>ІСТОРІЯ БІОХІМІЇ</b>		<b>BIOCHEMISTRY HISTORY</b>
<i>Каліман П.А., Чернищенко Г.О.</i> РОЗВИТОК МЕДИЧНОЇ ХІМІЇ В ІМПЕРАТОРСЬКОМУ ХАРКІВСЬКОМУ УНІВЕРСИТЕТІ	77	<i>Kaliman P.A., Chernyshenko A.A.</i> THE DEVELOPMENT OF MEDICAL CHEMISTRY AT KHARKIV IMPERIAL UNIVERSITY



УДК 615.357.631:577.611.657

## ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ АМІЗОН НА СТАН УШКОДЖЕНИХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ХРОМАТИНУ ТА МЕМБРАН КЛІТИН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Ю.І. Губський, Н.В. Литвинова, Є.Л. Левицький, В.М. Овруцький,  
М.Ф. Пасечник, О.М. Марченко, В.Ф. Даниленко, Г.Г. Горюшко,  
Р.Г. Прима, Н.М. Курська, Л.П. Бабенко  
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ

*За умов пошкодження мембран ендоплазматичного ретикулума та фракцій транскрипційно активного та репресованого хроматину клітин печінки щурів тетрахлорметаном вивчали наявність мембрано- та генопротекторних властивостей у нового нестероїдного протизапального засобу амізон. Незважаючи на позитивний вплив на деякі показники, що характеризують стан цих біоструктур, введення препарату не спричиняло впливу на ряд інших показників (структуру глибинних шарів мембран, структуру гістонів у хроматині) або посилювало пошкодження даних біоструктур (відбувалося подальше збільшення частки транскрипційно активного хроматину та відношення білок/ДНК у репресованому хроматині). Введення препарату отруєним тваринам не впливало на частоту смертності.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ендоплазматичний ретикулум, хроматин, печінка, тетрахлорметан, амізон.

**ВСТУП.** Пошук генопротекторів серед відомих фармпрепаратів та нових біологічно активних сполук зумовлений необхідністю захисту генофонду при вкрай несприятливій екологічній та економічній ситуації в Україні. Усе це повною мірою стосується й проблеми пошуку препаратів, які володіють мембраностабілізуючими властивостями стосовно клітин організму за умов їх хімічного ураження. Раніше у досліджах *in vitro* показано, що новий лікарський препарат амізон справляє стабілізуючу дію на мембрани мононуклеарних клітин крові щурів за умов розвитку експериментального артриту [4].

У даній роботі вивчали вплив амізону на стан мембран ендоплазматичного ретикулума (ЕР) та фракцій транскрипційно активного (ТАХ) та репресованого (РХ) хроматину клітин печінки щурів за умов хімічного пошкодження біоструктур гепатотоксином тетрахлорметаном (ТХМ).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар віком 3 міс. та масою 150-200 г. ТХМ вводили

внутрішньочеревно у дозі 1 ЛД<sub>50</sub> (1,75 мл/кг маси тіла). Препарат амізон (мол. маса 354) розроблено в Інституті фармакології та токсикології АМН України, за хімічною будовою є четвертинною сіллю ізонікотинової кислоти – 3-(N-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридиній-йодидом. Препарат вводили внутрішньочеревно у вигляді водного розчину з розрахунку 1,725 мг/кг маси тіла через 0,5 та 3,0 год після ТХМ. Мембрани ЕР та фракції РХ і ТАХ з клітин печінки інтактних та отруєних ТХМ щурів виділяли, як описано раніше [3, 7]. У виділених біоструктурах вивчали стан реакцій ПОЛ: спонтанного – за рівнем дієнових кон'югатів (ДК) та індукованого НАДФН та аскорбатом (НЗП та АЗП відповідно) [2]. Зміни структури мембран та фракцій хроматину вивчали на основі низки кількісних фізико-хімічних показників, що характеризують їх основні структурні компоненти – білки, ліпіди та ДНК (для хроматину) [5]. Зміни загальної структури хроматину визначали спектрофотометрично за такими показниками, як частка РХ і ТАХ у хроматині (у відсотках) та співвідношення білок/ДНК окремо в кожній фракції. Зміни структури білків визначали за їх власною флуоресценцією та з використанням гістон-специфічного зонда флуорескаміна (с=2,5 мг/мл, λ<sub>35</sub>=390 нм). Ряд показників, що характеризують структурні особливості мембран та

© Ю.І. Губський – чл. кор. АМН України, д.м.н., проф.,  
Н.В. Литвинова, Є.Л. Левицький, В.М. Овруцький,  
М.Ф. Пасечник, О.М. Марченко, В.Ф. Даниленко, Г.Г. Горюшко,  
Р.Г. Прима, Н.М. Курська, Л.П. Бабенко, 2000.



хроматину клітин печінки щурів, визначали за методами флуоресцентного зондування поверхневим зондом АНС ( $c=5 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{365}=386$  нм), глибинним зондом піреном ( $c=5 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{365}=286$  нм), спектрофотометрії та мікрокалориметрії в режимі змішування при температурі 26 °С. У роботі використовували спектрофотометри "Shimadzu MPS-5000" (Японія), "СФ-46" (СРСР), спектрофлуориметр Hitachi MPF-4 (Японія) та мікрокалориметр LKB-2107 (Швеція). Статистичну обробку отриманих даних проводили за критеріями параметричної (Стюдента) та непараметричної (Вілкоксона-Манна-Уїтні) статистики.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Препарат амізон при введенні експериментальним тваринам за умов отруєння їх ТХМ спричиняє неоднозначні зміни у вивчених біоструктурах клітин печінки. У хроматині отруєння ТХМ викликає підвищення вмісту активної фракції (ТАХ) та незначне зростання співвідношення білок/ДНК у РХ (табл. 1). Введення амізону призводить до ще більшого зростання цих двох показників. У таблиці 2 наведено результати виміру інтенсивності реакцій спонтанного ПОЛ у фракціях РХ і ТАХ. Як можна бачити, отруєння ТХМ викликає різке підвищення рівня ДК (на 400 %) у активній фракції хроматину. Введення отруєним тваринам амізону призводить до часткової нормалізації кількісних значень цього показника (зменшення майже вдвічі). Подібні закономірності знайдено і стосовно інтенсивності реакцій індукованого НАДФН (НЗП) та аскорбатом (АЗП) ПОЛ (табл. 3).

У цілому необхідно зазначити, що амізон спричиняє різнонаправлений вплив на хроматин, викликаючи, з одного боку, антиоксидний ефект стосовно реакцій ПОЛ у фракціях хроматину (спонтанного ПОЛ – у активній фракції та індукованого ПОЛ – у репресованій), а з іншого – підсилюючи ушкоджуючу гепатотоксичну дію ТХМ на хроматин, призводячи до ще більшого підвищення частки активного хроматину та співвідношення білок/ДНК у РХ. Ця закономірність знаходить своє відображення у значеннях показника смертності експериментальних тварин під впливом ТХМ. Якщо у групі без амізону цей показник дорівнює 52 %, то введення препарату не викликає достовірної зміни рівня цього показника.

На рисунку 1 наведено кінетичні криві тепловиділення при взаємодії екзогенного амізону з фракціями хроматину. Для всіх досліджених зразків є характерним інтенсивний екзотермічний ефект, що свідчить про

існування безпосередньої (прямої) взаємодії амізону з фракціями хроматину з утворенням електростатичних або Ван-дер-Ваальсових зв'язків. Отруєння тварин ТХМ та введення експериментальним щурам амізону призводять до перерозподілу інтенсивностей теплового ефекту, що свідчить про виникнення під впливом цих чинників таких порушень у структурі фракцій, які викликають зміни кількості сайтів зв'язування молекул препарату. Як відомо, інтоксикація ТХМ індукує вільнорадикальне ліпопереокислення, тому екзотермічний ефект реакції амізону з дослідженими фракціями хроматину може бути результатом його взаємодії з вільними радикалами. Для фракції РХ спостерігають інтенсивніше тепловиділення, ніж для ТАХ. При цьому отруєння тварин ТХМ призводить до підвищення ефекту (порівняно з інтактними), а введення інтоксикованим щурам амізону робить ефект ще більшим. Для фракції ТАХ спостерігають дещо іншу картину: отруєння тварин ТХМ призводить до підвищення тепловиділення (порівняно з інтактними), але введення інтоксикованим щурам препарату настільки знижує цей показник, що він стає меншим від його відповідних значень у інтактних тварин. Розбіжності у величинах теплових ефектів реакцій амізону з фракціями РХ і ТАХ можуть вказувати на існування переважних сайтів зв'язування препарату на (чи у) хроматині з окремими його компонентами (білками, ліпідами, ДНК). На рисунку 1 також наведено кінетичні криві, що відображають тепловий ефект реакцій взаємодії препарату з моделями: бішаром з фосфатидилхоліну, білком (ЧСА) та з комерційним препаратом ДНК. Як можна бачити, величина теплового ефекту реакції (максимум тепловиділення на 2-3 хв з моменту змішування) амізону з ДНК значно вища, ніж з фосфоліпідним бішаром. Тобто, для однієї й тієї ж концентрації білка у фракціях РХ та ТАХ (підібраної експериментально) високий тепловий ефект реакцій амізону з РХ, порівняно з ТАХ, зумовлений взаємодією препарату з ДНК, вміст якої у даній фракції хроматину значно більший, ніж у ТАХ.

У цілому введення амізону отруєним ТХМ щурам "погіршує" стан структурної організації хроматину клітин печінки щурів, пошкоджений дією ТХМ, призводячи до ще більшої "активації" геному (точніше, спроби подібної активації, тому що, як відомо, збільшення частки ТАХ під впливом ТХМ не викликає активацію транскрипції, яка, навпаки, за цих умов значно зменшується [6], що проявляється



Таблиця 1 – Структурні характеристики фракцій хроматину печінки щурів за умов отруєння ТХМ та введення амізону

Умови експерименту	РХ		ТАХ	
	Відносна кількість (%)	Співвідношення білок/ДНК	Відносна кількість (%)	Співвідношення білок/ДНК
Контроль	92,10	1,02	7,90	11,30
Отруєння ТХМ	85,40*	1,47	14,60*	11,60
Отруєння ТХМ + введення амізону	77,20*	2,60*	22,80*	11,80

Примітка. Тут і в таблиці 2-5: \* –  $p < 0,05$  (порівняно з контролем); як контроль використовували інтактних тварин ( $n=6-11$ ).

Таблиця 2 – Концентрація дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка) у фракціях хроматину печінки щурів за умов отруєння ТХМ та введення амізону

Умови експерименту	РХ		ТАХ	
	Гептанова фаза	Ізопропанольна фаза	Гептанова фаза	Ізопропанольна фаза
Контроль	235,7	246,9	555,5	221,6
Отруєння ТХМ	186,4	306,6	538,4	892,3*
Отруєння ТХМ + введення амізону	119,3	326,6	213,4	572,9

Таблиця 3 – Швидкість накопичення МДА (нмоль/мг білка за 2 год) у фракціях хроматину клітин печінки щурів за умов отруєння ТХМ та введення амізону

Показники	РХ			ТАХ		
	Контроль	Отруєння ТХМ	Отруєння ТХМ+введення амізону	Контроль	Отруєння ТХМ	Отруєння ТХМ+введення амізону
НЗП	2746,8	2145,7	1747,7*	2117,9	2072,3	1382,0
НЗП, дельта	255,0	110,6	68,4	320,8	262,5	92,0
АЗП	1005,4	990,9	578,6*	980,7	950,3	579,1
НК	555,2	246,4	170,1*	216,4	148,1	91,5*

Примітка. НЗП – НАДФН-залежне ПОЛ; НЗП, дельта – його складова, залежна від нагрівання; АЗП – аскорбат-залежне ПОЛ; НК – неініційований контроль; кількісні значення НЗП; НЗП, дельта та АЗП були отримані з урахуванням виключення значень НК.

збільшенням сайтів вільної для зв'язування з екзогенним амізоном ДНК РХ і зменшення кількості подібних сайтів зв'язування з білками ТАХ).

Як видно з таблиці 4, інтенсивність власної флуоресценції фракцій хроматину, яка характеризує структуру негістонових білків, за умов інтоксикації тварин ТХМ зазнає суттєвих змін (підвищується в 1,7 раза) лише у фракції ТАХ, тоді як у РХ такі зміни не є достовірними. Введення інтоксикованим щурам амізону значною мірою нормалізує цей показник. Вірогідність (W) індуктивно-резонансного перенесення енергії (ІРПЕ), яка відображає стан білково-ліпідного контакту у фракціях хроматину, за умов отруєння щурів ТХМ має тенденцію до підвищення лише у фракції РХ. Введення препарату отруєним тваринам нормалізує цей показник. У фракції ТАХ достовірних змін не викликали ні інтоксикація щурів ТХМ, ні введення інтоксикованим тваринам амізону. Значення констант Штерна-Фольмера, які залежать від швидкості дифузії

акриламід у білках, не зазнавали помітних змін у фракціях хроматину за даних умов постановки експериментів (табл. 4).

Токсичний ефект ТХМ на клітини печінки, як відомо, опосередкований також зміною структурно-функціональних властивостей мембран гепатоцитів [3]. У зв'язку з цим, для оцінювання можливого мембранопротекторного ефекту амізону досліджували стан процесів ПОЛ та фізико-хімічні параметри мембран ЕР клітин печінки, яким притаманна висока чутливість до пошкоджуючої дії ТХМ.

Як свідчать дані, наведені в таблиці 5, за 24 год після отруєння ТХМ рівень первинних молекулярних продуктів ПОЛ (кон'югованих дієнів та трієнів), а також швидкість накопичення вторинних ТБК-активних продуктів (МДА) за умов спонтанного та індукованого ліпопереокислення, не відрізняються від значень, характерних для інтактних тварин. Рівень кінцевих продуктів, що флуоресціюють, є достовірно збільшеним при перерахунку їх відносно вмісту мембранного білка та



Таблиця 4 – Фізико-хімічні показники фракцій хроматину печінки щурів за умов отруєння ТХМ та введення амізону

Показники	Умови експерименту					
	Контроль		Отруєння ТХМ		Отруєння ТХМ+ введення амізону	
	РХ	ТАХ	РХ	ТАХ	РХ	ТАХ
Інтенсивність власної білкової флуоресценції, ум. од.	42,0	192,0	43,7	332,1*	38,2	207,4*
Константа Штерна-Фольмера, М <sup>-1</sup>	10,6	9,1	9,2	9,1	8,9	9,0
Вірогідність ІРРЕ, ум. од.	0,10	0,25	0,14	0,24	0,08	0,20
Інтенсивність флуоресценції ЕБ, відн. од.	1,00	1,00	0,94	1,12	0,90	1,00
Інтенсивність флуоресценції ФК, відн. од.	1,00	1,00	1,06	0,63	1,20	0,66

Таблиця 5 – Концентрації продуктів ПОЛ у мембранах ЕР клітин печінки щурів за умов отруєння ТХМ та введення амізону

Показники	Умови експерименту		
	Контроль	Отруєння ТХМ	Отруєння ТХМ+ введення амізону
Вміст кон'югованих дієнів та трієнів			
Гептанова фаза			
E <sub>234 нм</sub> /мг білка	0,29±0,02	0,37±0,03	0,35±0,02
E <sub>274 нм</sub> /мг білка	0,070±0,006	0,062±0,004	0,052±0,004*
Ізопропанольна фаза			
E <sub>234 нм</sub> /мг білка	0,33±0,03	0,25±0,03	0,28±0,02
E <sub>274 нм</sub> /мг білка	0,078±0,004	0,064±0,004	0,078±0,006
Швидкість накопичення МДА (нмоль/мг білка за 1 хв)			
НЗП	196,72±5,00	198,14±12,00	217,43±10,00
АЗП	207,74±4,00	191,09±11,58	211,64±3,64
НК	9,32±0,68	7,42±0,67	8,65±0,80
Вміст продуктів ПОЛ, що флуоресціюють			
I <sub>фл</sub> /мг білка	16,37±1,51	22,28±1,75*	23,13±1,60*
I <sub>фл</sub> /мг ліпідів	26,05±0,14	18,19±1,12*	17,30±0,52*
Загальні ліпіди/білок, відн. од.	0,63±0,06	1,21±0,10*	1,33±0,12*

зниженим у перерахунку на загальні ліпіди. Така уявна невідповідність зумовлена збільшенням при інтоксикації в мембранах ЕР співвідношення загальні ліпіди/білок і, ймовірно, є відображенням жирової дистрофії клітин печінки, що виникає за умов інтоксикації ТХМ [1]. За 24 год після отруєння співвідношення загальні ліпіди/білок збільшується майже удвічі, порівняно зі значеннями аналогічного показника інтактних тварин. Згідно з нашими даними, за умов обраної експериментальної моделі цей показник є більш інформативним, ніж вміст продуктів ПОЛ, що через 24 год після отруєння може бути на рівні значень, властивих інтактним тваринам, або навіть нижче. Як свідчать результати, наведені в таблиці 5, введення амізону при отруєнні ТХМ суттєво не впливає на вміст продуктів ліпопереокислення та не змінює співвідношення загальні ліпіди/білок у мембранах ЕР клітин печінки.

Подальші дослідження були спрямовані на виявлення ефектів амізону на фізико-хімічні параметри мембран та особливості їх структурної модифікації. З цією метою використовували методи флуоресцентного зондування мембран за допомогою АНС, флуорескаміна та пірену. В таблиці 6 наведено значення фізико-хімічних показників, що характеризують властивості поверхні мікросомальних мембран: зміни інтенсивності флуоресценції аніонного зонда АНС при його вбудовуванні в поверхню мембран (F<sub>АНС</sub>), величини констант зв'язування (K<sub>зв</sub>) та кількість місць зв'язування (N) зонда з мембранами, а також відносної інтенсивності флуоресценції флуорескаміну – індикатора на вміст позитивно заряджених первинних ε-аміногруп залишків лізину в білкових молекулах. Наведено також дані про достовірність індуктивно-резонансного перенесення енергії (ІРРЕ, W) з білкових флуорофорів на пірен. Як свідчать



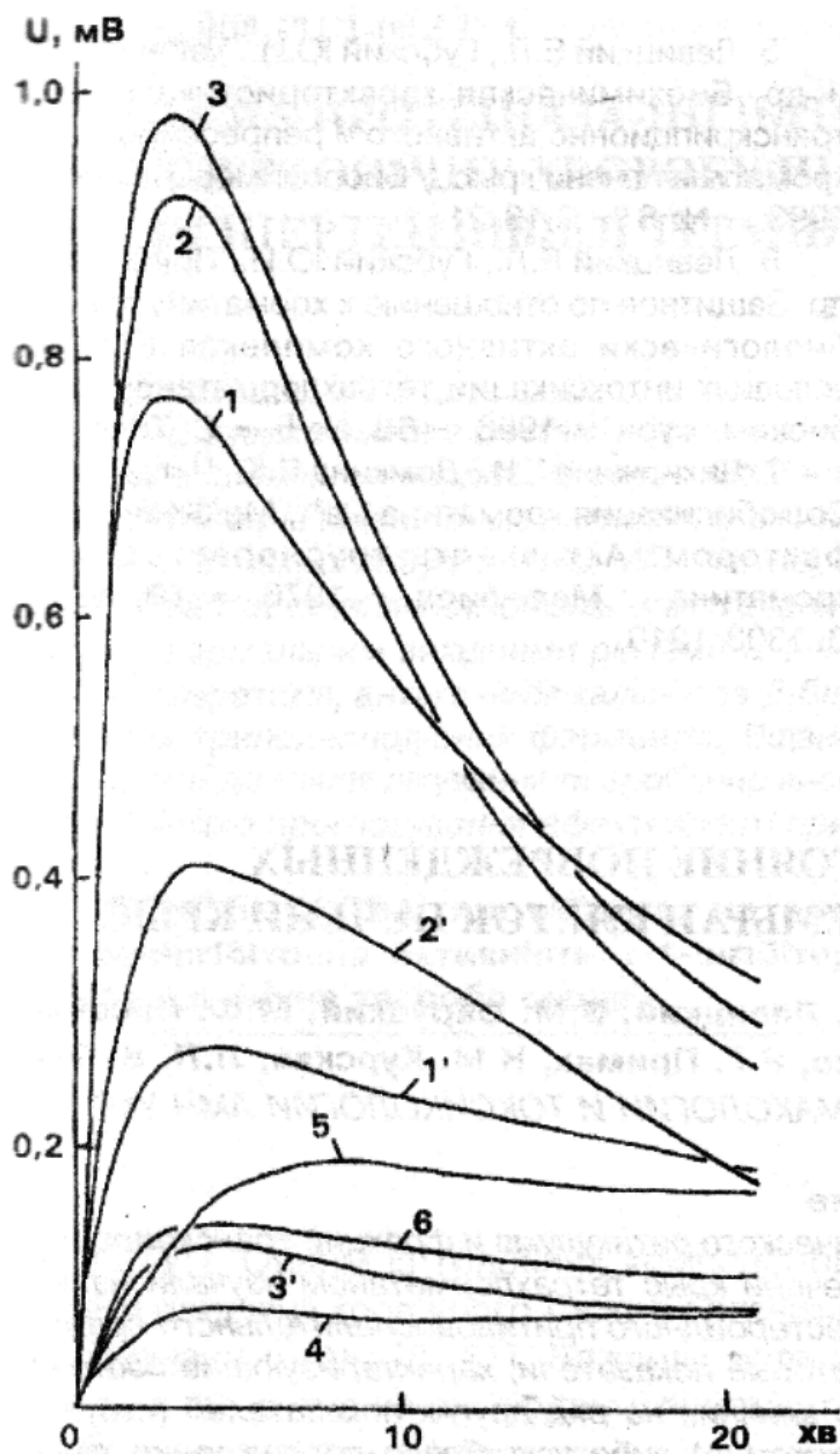


Рис. 1. Кінетичні криві тепловиділення при взаємодії екзогенного амізону з фракціями хроматину та модельними системами.

1-3 - РХ; 1'-3' - ТАХ; 4 - ФХ-бішар; 5 - ДНК; 6 - ЧСА; 1, 1' - контроль; 2, 2' - ТХМ; 3, 3' - ТХМ+амізон.  
 $c_{\text{амізону}} = 3,3 \times 10^{-5} \text{ M}$ ;  $c_{\text{ЧСА}} = 0,53 \text{ мг/мл}$ ;  $c_{\text{ДНК}} = 0,33 \text{ мг/мл}$ ;  
 $c_{\text{ФХ}} = 0,67 \text{ мг/мл}$ ;  $c_{\text{РХ}} = c_{\text{ТАХ}} = 0,033 \text{ мг/мл}$  (щодо білка).

отримані результати, зниження відносної інтенсивності флуоресценції аніонного зонда АНС при його вбудовуванні на поверхні мембран ( $F_{\text{АНС}}$ ) вказує на ущільнення поверхні або на зростання негативного заряду внаслідок накопичення продуктів ліпоперекислення за умов інтоксикації ТХМ. Деяке збільшення

кількості місць зв'язування  $N$  при незначному зниженні величини  $K_{\text{зв}}$  вказує на делокалізацію заряду на поверхні. Однією з причин утрудненого вбудовування АНС (підвищення негативного потенціалу поверхні) може бути зниження концентрації позитивно заряджених  $\epsilon$ -аміногруп залишків лізину, що спостерігається за умов експерименту. Введення *in vivo* амізону призводить до підвищення параметрів  $F_{\text{АНС}}$  та  $F_{\text{ФК}}$  до рівня контролю. Разом із тим, значення константи зв'язування зростає більше ніж у 2 рази, порівняно з контролем, а кількість місць зв'язування має лише тенденцію до збільшення.

Якщо за умов отруєння спостерігається лише тенденція до зниження величини вірогідності ( $W$ ) ІРПЕ, то при введенні амізону цей параметр достовірно зменшується, що свідчить про збільшення відстані білок-ліпід, тобто про послаблення білково-ліпідного контакту. Така індиферентність препарату щодо глибинних ділянок мембран та відсутність впливу на стан білково-ліпідного контакту була нами показана на прикладі мембран мононуклеарних клітин [8].

Таким чином, у результаті проведених досліджень показано, що амізон не проявляє значних мембранопротекторних ефектів за умов пошкодження клітин печінки щурів ТХМ. Препарат деякою мірою нормалізує властивості поверхні мембран ЕР клітин печінки тварин, не спричиняючи впливу на їх глибинні ділянки та стан білково-ліпідного контакту, а також на інтенсивність ліпоперекислення та величину співвідношення загальні ліпіди/білок.

**ВИСНОВОК.** Препарат амізон, якому притаманні протизапальні та анальгезивні властивості, за умов пошкодження ядерного хроматину та мембран ендоплазматичного ретикулума клітин печінки щурів ТХМ не проявляє виражених геномо- та мембранопротекторних властивостей.

Таблиця 6 - Фізико-хімічні параметри мембран ЕР клітин печінки щурів за умов інтоксикації ТХМ та введення амізону

Умови експерименту	$F_{470, \text{АНС}}$	$F_{\text{ФК}}$	$K_{\text{зв. АНС}}, \text{ M}^{-1} \cdot 10^{-4}$	$N, \times 10^{-5}/\text{г білка}$	ІРПЕ, $W$
Контроль	$1,0 \pm 0,04$	$1,00 \pm 0,01$	$1,40 \pm 0,20$	1,70	$0,25 \pm 0,03$
Отруєння ТХМ	$0,75 \pm 0,04^*$	$0,87 \pm 0,06^*$	$1,20 \pm 0,20$	2,10	$0,18 \pm 0,02$
Отруєння ТХМ+введення амізону	$1,04 \pm 0,05^{**}$	$1,11 \pm 0,04$	$3,00 \pm 0,50^*$	2,40	$0,16 \pm 0,02^*$

Примітка. \* -  $p < 0,05$  щодо контролю; \*\* -  $p < 0,05$  щодо отруєння ТХМ;  $F_{\text{АНС}}$ ,  $F_{\text{ФК}}$  - інтенсивність флуоресценції зондів АНС та ФК, вбудованих у зразки мікосомальних мембран печінки щурів.



#### ЛІТЕРАТУРА

1. Губский Ю.И. Коррекция химического повреждения печени – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.
2. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л. Механизмы перекисного окисления липидов фракций хроматина печени крыс // Биополимеры и клетка. – 1993. – 9, № 5. – С. 34-43.
3. Глушков Р.Г., Гуськова Г.А., Голиков П.П. и др. Изучение антиокислительных свойств арбидола // Хим. фарм. журн. – 1996. – № 1. – С. 3-5.
4. Губский Ю.И., Тринус Ф.П., Бухтиарова Т.А., Горюшко А.Г. Структурная модификация мембран мононуклеарных клеток крови крыс в условиях экспериментального артрита и фармакотерапия нестероидными противовоспалительными средствами // Журн. АМН Украины. – 1999. – 5, № 1. – С. 110-120.
5. Левицкий Е.Л., Губский Ю.И., Чабанный В.Н. и др. Биохимическая характеристика фракции транскрипционно активного и репрессированного хроматина печени крыс // Биополимеры и клетка. – 1993. – № 6. – С.13-21.
6. Левицкий Е.Л., Губский Ю.И., Примак Р.Г. и др. Защитное по отношению к хроматину действию биологически активного комплекса БТК-8Л в условиях интоксикации тетрахлорметаном // Укр. биохим. журн. – 1996. – 68, № 5. – С. 76-84.
7. Чихиржина Г.И., Домкина Л.К., Чигарева Н.Г. Солюбилизация хроматина  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -зависимым фактором. Активность труднорастворимого хроматина // Мол. биол. – 1976. – 10, № 6. – С. 1303-1310.

### ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА АМИЗОН НА СОСТОЯНИЕ ПОВРЕЖДЕННЫХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ ХРОМАТИНА И МЕМБРАН КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС

Ю.И. Губский, Н.В. Литвинова, Е.Л. Левицкий, В.М. Овруцкий, М.Ф. Пасечник  
А.Н. Марченко, В.Ф. Даниленко, А.Г. Горюшко, Р.Г. Примак, Н.М. Курская, Л.П. Бабенко  
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ

#### Резюме

В условиях повреждения мембран эндоплазматического ретикула и фракций транскрипционно активного и репрессированного хроматина клеток печени крыс тетрахлорметаном изучали наличие мембрано- и генопротекторных свойств у нового нестероидного противовоспалительного средства амизон. Несмотря на положительное влияние на некоторые показатели, характеризующие состояние этих биоструктур, введение препарата не оказывало влияния на ряд других показателей (структуру глубинных слоев мембран, структуру гистонов в хроматине) либо усугубляло повреждение данных биоструктур (имело место дальнейшее увеличение доли транскрипционно активного хроматина и отношения белок/ДНК в репрессированном хроматине). Введение препарата отравленным животным не оказывало влияния на частоту смертности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эндоплазматический ретикулум, хроматин, печень, тетрахлорметан амизон.

### REMEDY AMIZON INFLUENCE ON THE STATE OF DAMAGED BY TETRACHLOROMETHANE CELLS MEMBRANES AND CHROMATIN OF THE RAT LIVER

Yu.I. Hubskiy, N.V. Litvinova, Ye.L. Levytsky, V.M. Ovrutskiy, M.F. Pasechnyk,  
A.N. Marchenko, V.F. Danylenko, A.H. Horiushko, R.H. Prymak, N.M. Kurskaya, L.P. Babenko  
PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCES ACADEMY OF UKRAINE

#### Summary

In conditions of the damage of rat cells liver endoplasmatic reticulum membranes and transcriptionally active and repressed chromatin fractions by tetrachloromethane the presence membrano- and genomoprotective properties of new NAIMs amizon has been studied. In spite of the positive influence on some parameters of these biostructures, the introduction of remedy has not effect on other indices (the structure of deep membrane layers, the structure of histones in chromatin), or has negative influence on damaged biostructures (the further increase of transcriptionally active chromatin and ratio protein/DNA in repressed one). Amizon did not effect on quantity of died animals.

KEY WORDS: endopasmatic reticulum, chromatin, liver, tetrachloromethane, amizon.

Отримано 25.06.2000 р.



## СИСТЕМА ПРОТЕЇНАЗА-ІНГІБІТОР ПРОТЕЇНАЗ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ ПІД ВПЛИВОМ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ТЕРАПІЇ

Л.М. Самохіна, Є.М. Гольдрин, С.М. Коваль  
ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ

*Досліджували зміни в системі протеїназа-інгібітор протеїназ у хворих на гіпертонічну хворобу в комбінації з ішемічною хворобою серця (ІХС) в ході антигіпертензивної терапії.*

*У пацієнтів із підвищеною активністю  $\alpha$ -1-інгібітора протеїназ ( $\alpha$ -1-ІП) спостерігали низькі рівні хімази й  $\alpha$ -2-макроглобуліну ( $\alpha$ -2-МГ), які нормалізувались після проведення курсу комбінованої терапії із застосуванням інгібіторів ангіотензин-перетворювального ферменту (іАПФ). У хворих із низьким і нормальним вихідними рівнями  $\alpha$ -1-ІП на фоні традиційних схем терапії з використанням тіазидних діуретиків, антагоністів кальцію та  $\beta$ -блокаторів підвищується активність протеїназ, імовірно за рахунок трипсиноподібних ферментів. Відзначено наявність взаємозв'язку між досліджуваними показниками до і після лікування та зроблено висновок про можливість застосування оцінки активності  $\alpha$ -1-ІП з метою прогнозування ефективності призначення іАПФ хворим на гіпертонічну хворобу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** протеїназа, нетрипсиноподібні протеїнази, хімаза, трипсин- і еластазоінгібіторна активність  $\alpha$ -1-інгібітора протеїназ,  $\alpha$ -2-макроглобулін, гіпертонічна хвороба, ішемічна хвороба серця

**ВСТУП.** Одним із головних компонентів системи регуляції кров'яного тиску в організмі є ангіотензин II (АII) [8, 11]. Важливу роль в утворенні АII в тканинах людини відіграють серинові протеїнази (хімаза, тонін, катепсин G) [9, 12]. Клінічне значення, механізми регуляції активності цих протеїназ потребують детального дослідження.

Відомо, що в людей у серці, артеріях і нирках хімазозалежне утворення АII переважає над АПФ-залежним [6, 11]. Але також показано, що на початкових стадіях гіпертонічної хвороби (ГХ) більш важливу роль в утворенні АII в тканинах судин відіграє АПФ, хімаза не бере в цьому участі [11]. Роль хімази на пізніх стадіях ГХ при наявності ускладнень чітко не визначена.

$\alpha$ -1-ІП пригнічує активність хімази [5]. Але відомо, що в присутності  $\alpha$ -1-ІП хімаза, яка пов'язана з гепарином (нативна форма), здатна утворювати АII [10]. Слід також відзначити, що більш ефективним інгібітором хімази вважають  $\alpha$ -2-МГ [13]. У присутності гепарину, глікозаміногліканів  $\alpha$ -2-МГ спроможний пригнічувати хімазу, тільки константа асоціації при цьому знижується приблизно в 10 разів.

Раніше в результаті дослідження системи протеїназа- $\alpha$ -1-ІП у хворих віком (37±2) років із ГХ I-II стадій після манжеткової проби (МП)

нами відзначено підвищення активності  $\alpha$ -1-ІП у сироватці крові [3]. Після курсу антигіпертензивної терапії із застосуванням лозартану показана відсутність підвищення  $\alpha$ -1-ІП після МП. Рівень нетрипсиноподібних протеїназ (хімаза, хімотрипсин, простат-специфічний антиген або калікреїн III, тромбін секреторних гранул) після лікування підвищувався у 2 рази і досягав нормальних величин (після проведення МП суттєвих змін не спостерігали). Було зроблено висновок про можливість використання визначення  $\alpha$ -1-ІП як критерію впливу лікування на функції ендотелію. Роль  $\alpha$ -1-ІП,  $\alpha$ -2-МГ у регуляції активності хімази в людей поряд з іншими протеїназами при ГХ II стадії у комбінації із супровідною патологією, зокрема ІХС, не вивчали.

Метою дослідження було вивчення змін у системі протеїназа – інгібітор протеїназ у хворих із ГХ II стадії на фоні ІХС у результаті антигіпертензивної терапії з використанням МП.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 57 хворих на ГХ II стадії з наявністю ІХС. Діагноз ГХ та ІХС встановлювали на основі критеріїв ВОЗ. Вік хворих становив від 39 до 71 років (середній вік – (52±10) роки). Тривалість захворювання ГХ – від 5 до 25 років (середня тривалість – (14±6) років), тривалість ІХС – 1-4 роки.



Лікування проводили із застосуванням традиційних схем антигіпертензивної терапії, яка включала іАПФ, тіазидні діуретики, антагоністи кальцію дигідропіридинового ряду та  $\beta$ -блокатори. Інгібітори АПФ призначали хворим, у яких не було гіперкаліємії, вираженої брадикардії, об'ємзалежної форми ГХ. Курс лікування становив 4-6 тижнів.

Контрольну групу практично здорових людей ( $n=22$ ) було відібрано з урахуванням показників ліпідного обміну.

Зразки сироватки крові відбирали до і після лікування, а також із МП, яку проводили звичайним тонометром. Спочатку вимірювали рівень артеріального тиску (АТ), потім у манжетку нагнітали повітря до рівня АТ вищого від вихідного на 10 мм Hg. Час компресії на передпліччя становив 5 хв. Кров забирали безпосередньо до і після проведення МП.

Рівень протеїназ і трипсинінгібіторну активність  $\alpha$ -1-ІП визначали з використанням тест-систем, розроблених в Інституті терапії АМН України на основі високочутливого ( $10^{-9}$ - $10^{-10}$  г) методу [2]. Інструкція щодо їхнього застосування затверджена Фармакологічним комітетом МОЗ України (1994). Принцип методу ґрунтується на використанні як субстрату протеолітичної реакції іммобілізованого на поверхні полістиролу маркерного ферменту (пероксидаза хрону), попередньо кон'югованого із субстратним білком (альбумін сироватки бика (БСА)). Рівень зазначених показників оцінювала за залишковою активністю маркерного ферменту, розраховували в г/л · год.

Для визначення рівня  $\alpha$ -2-МГ як субстрату протеолітичної реакції використовували протамінсульфат. Після проведення реакції утворення комплексу протеїназа – інгібітор протеїназ до реакційної суміші додавали 1:1 за об'ємом соєвий інгібітор трипсину (СІТ) у концентрації 150 мкг/мл та інкубували 5 хвилин при температурі 37 °С для зв'язування вільних протеїназ. Рівень  $\alpha$ -2-МГ у досліджуваних зразках розраховували за залишковою активністю трипсину, пов'язаного з  $\alpha$ -2-МГ.

Для визначення активності нетрипсиноподібних протеїназ (НП), хімази проводили окремо реакцію пригнічення ферментів, таких як трипсин, плазмін, калікреїн сироватки, а також тоніну (має і трипсин-, і хімотрипсиноподібну активність), додаванням 1:1 СІТ (0,01 мкг/мл). Потім для визначення НП проводили реакцію розщеплення іммобілізованого комплексу маркерного ферменту з БСА, а для визначення рівня хімази як субстрат використовували фрагмент 5-8 All. Активність хімази виражали у відсотках

розщеплення субстрату. Для оцінки рівня НП застосовували калібрувальну криву залежності розміру оптичної щільності від концентрації контрольних розчинів трипсину, як і при визначенні протеїназ, трипсинінгібіторної активності  $\alpha$ -1-ІП,  $\alpha$ -2-МГ.

Еластазоінгібіторну активність  $\alpha$ -1-ІП визначали після проведення реакції зв'язування 1:1 еластази (0,5 Од./л) з інгібітором протягом 15 хвилин при температурі 20 °С і розраховували за калібрувальним графіком залежності оптичної щільності від активності контрольних розчинів еластази.

У дослідженнях використовували пероксидазу хрону, БСА, протамінсульфат, еластазу (Росія), кристалічний трипсин фірми "Spofa" (Чехія), СІТ виробництва "Reanal" (Угорщина), фрагмент 5-8 All фірми "ICN" (США), полістиролові плашки фірми "Linbro" (США) і багатоканальний мікроспектрофотометр фірми "Flow" (Великобританія).

Отримані дані оброблено математично відповідно до методу Стьюдента-Фішера.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Відзначено значну варіацію дослідних показників. З огляду на важливість  $\alpha$ -1-ІП у регуляції активності протеїназ, у тому числі хімази, та його меншу варіацію порівняно з  $\alpha$ -2-МГ аналіз отриманих даних проводили з урахуванням вихідного рівня саме  $\alpha$ -1-ІП, його трипсинінгібіторної активності. Хворих розділили на 3 групи: з високим рівнем  $\alpha$ -1-ІП ( $>7,25$  г/л · год,  $n=42$ ), нормальним (6,25-7,25 г/л · год,  $n=8$ ) та низьким ( $<6,25$  г/л · год,  $n=7$ ).

Результати досліджень наведено в таблицях 1-2.

Слід зазначити, що суттєвих змін рівня досліджуваних протеїназ та інгібіторів до і після проведення МП нами не виявлено, тому ця частина результатів у таблицях не відображена. Враховуючи попередні дослідження системи протеїназа- $\alpha$ -1-ІП з використанням МП хворих на ГХ I-II стадій без супровідної патології, можна зробити висновок про можливість застосовувати визначення  $\alpha$ -1-ІП, як критерію впливу лікування на функції ендотелію лише для хворих на ГХ без супровідної патології.

Крім того, дослідження, проведені нами раніше, показали відсутність значних розходжень рівня НП,  $\alpha$ -2-МГ за статевою ознакою серед хворих із серцево-судинними захворюваннями, тому результати досліджень порівнювали без урахування статі.

Усі пацієнти з високим рівнем  $\alpha$ -1-ІП отримували повну комбіновану терапію, хворі



Таблиця 1 – Активність протеїназ, НП і хімази у хворих на ГХ

Група	Активність протеїназ, г/л·год		Активність НП, г/л·год		Активність хімази, %	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
Контроль	0,0188±0,0037		0,0202±0,0039		11,2700±2,3200	
$\alpha$ -1-ІП>N	0,0398±0,0077	0,0367±0,0095	0,0256±0,0001	0,0805±0,0030	3,7900±1,2200	8,1300±2,3500
P'		>0,05		<0,05		<0,05
P <sub>K</sub>	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	>0,05
$\alpha$ -1-ІП=N	0,0040±0,0004	0,0079±0,0001	0,0059±0,0001	0,0067±0,0001	18,9000±3,5800	22,8100±3,2200
P'		<0,001		>0,05		>0,05
P <sub>K</sub>	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P* <sub><math>\alpha</math>-1-ІП&gt;N</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,05
$\alpha$ -1-ІП<N	0,0064±0,0011	0,0153±0,0008	0,0055±0,0001	0,0098±0,0001	18,5500±2,0200	15,8700±0,8300
P'		<0,01		>0,05		>0,05
P <sub>K</sub>	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P* <sub><math>\alpha</math>-1-ІП&gt;N</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05
P* <sub><math>\alpha</math>-1-ІП=N</sub>	<0,05	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примітка. Тут і в наступній таблиці: P', P<sub>K</sub>, P\* <sub>$\alpha$ -1-ІП>N</sub>, P\* <sub>$\alpha$ -1-ІП=N</sub> – ступінь достовірності різниці відповідно до і після лікування, порівняно з контролем, з групами, де активність  $\alpha$ -1-ІП більша і дорівнює нормі.

Таблиця 2 – Трипсин- і еластазоінгібіторна активність  $\alpha$ -1-ІП та рівень  $\alpha$ -2-МГ у хворих на ГХ

Група	Трипсинінгібіторна активність $\alpha$ -1-ІП, г/л·год		Еластазоінгібіторна активність $\alpha$ -1-ІП, Од./л		Активність $\alpha$ -2-МГ, г/л·год	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
Контроль	7,365±0,082		241,490±3,970		2,820±0,950	
$\alpha$ -1-ІП>N	7,755±0,015	7,693±0,075	241,389±1,833	240,395±2,175	0,875±0,220	1,193±0,283
P'		>0,05		>0,05		>0,05
P <sub>K</sub>	<0,001	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
$\alpha$ -1-ІП=N	7,083±0,071	6,950±0,104	232,420±6,600	223,660±3,980	0,045±0,006	0,060±0,008
P'		>0,05		>0,05		>0,05
P <sub>K</sub>	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
P* <sub><math>\alpha</math>-1-ІП&gt;N</sub>	<0,001	<0,001	>0,05	<0,01	>0,05	>0,05
$\alpha$ -1-ІП<N	6,700±0,001	6,733±0,033	234,370±15,070	237,250±3,250	0,056±0,006	0,029±0,006
P'		<0,01		>0,05		<0,05
P <sub>K</sub>	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P* <sub><math>\alpha</math>-1-ІП&gt;N</sub>	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P* <sub><math>\alpha</math>-1-ІП=N</sub>	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05

з нормальним рівнем  $\alpha$ -1-ІП отримували тіазидні діуретики та антагоністи кальцію, з низьким  $\alpha$ -1-ІП – тіазидні діуретики та  $\beta$ -блокатори. Окремим пацієнтам з нормальним і низьким  $\alpha$ -1-ІП також призначали іАПФ, але суттєвих відмінностей показників протеїназ та їх інгібіторів, порівняно з такими у хворих, яких лікували без використання іАПФ, не було виявлено, тому вплив іАПФ у даного контингенту хворих не враховували.

У результаті аналізу досліджуваних показників до лікування відзначено, що в обстеженого контингенту хворих із нормальною і низькою активністю  $\alpha$ -1-ІП рівень НП нижчий контрольного (табл. 1). Така залежність може вказувати на виснаження ресурсів НП і  $\alpha$ -1-ІП у процесі формування патологічного стану організму і/або участь інших інгібіторів у пригніченні активності НП.

З огляду на методичні особливості визначення нами активності НП, а саме пригнічення трипсиноподібних протеїназ за допомогою СІТ

перед проведенням протеолітичної реакції, варто підкреслити відсутність прояву активності нетрипсиноподібних протеїназ катепсину G, а також тоніну, тому що вони пригнічуються СІТ. АІІ може прямо утворюватися з ангіотензиногену в реакції, що каталізується тоніном, катепсином G або тканинним активатором плазміногену [1, 4, 7]. Крім того, катепсин G, тонін, а також хімаза, каталізують розщеплення АІ до АІІ. Нами виявлено, що рівень нетрипсиноподібної протеїнази, хімази нижчий контрольного значення в пацієнтів із високою активністю  $\alpha$ -1-ІП, тобто спостерігається зворотна кореляція, яка зумовлена участю  $\alpha$ -1-ІП у пригніченні активності хімази.

Після лікування відзначено кореляцію змін активності НП і хімази: спостерігали нормалізацію рівня обох показників у пацієнтів із підвищеною активністю  $\alpha$ -1-ІП за рахунок суттєвого збільшення хімази на фоні комбінованої терапії з використанням іАПФ.



Активність протеїназ (загальна протеолітична активність) істотно перевищувала норму у хворих із високим рівнем  $\alpha$ -1-ІП. З огляду на те, що активність ІП у даного контингенту хворих низька, можна говорити про збалансованість системи протеїназа – інгібітор протеїназ за рахунок високого рівня трипсиноподібних ферментів. Після лікування активність протеїназ у всіх пацієнтів була в межах норми, незважаючи на підвищення в групах із низьким і нормальним  $\alpha$ -1-ІП. Зазначені зміни вказують на модулюючий ефект проведеної антигіпертензивної терапії на параметри протеїназного спектра в даного контингенту хворих.

Відзначене підвищення рівня протеїназ спостерігали на фоні відсутності суттєвих змін трипсин- і еластазоінгібіторної активності  $\alpha$ -1-ІП у результаті лікування (табл. 2). Виявлено незначне зниження трипсинінгібіторної активності  $\alpha$ -1-ІП після курсу терапії в осіб із нормальним і високим вихідними рівнями даного показника. Слід також відзначити, що до лікування розходжень еластазоінгібіторної активності між групами не було, а після терапії спостерігали її істотне зниження в пацієнтів із нормальним вихідним рівнем  $\alpha$ -1-ІП, тобто на фоні значного підвищення активності трипсиноподібних протеїназ, можливо за рахунок еластази.

Зміни рівня  $\alpha$ -2-МГ після лікування, відзначені в групі з високою вихідною активністю  $\alpha$ -1-ІП, полягають у його підвищенні та нормалізації, що має корелятивний зв'язок із зростанням хімази в даного контингенту хворих на фоні комбінованої терапії з використанням іАПФ. Враховуючи, що рівень  $\alpha$ -1-ІП не змінюється, можна говорити про включення  $\alpha$ -2-МГ у регуляцію активності хімази за вказаних умов. У групі з низьким  $\alpha$ -1-ІП спостерігали зниження  $\alpha$ -2-МГ приблизно у 2 рази, що вказує на компенсаторні механізми його участі при виснаженні ресурсів  $\alpha$ -1-ІП.

**ВИСНОВКИ.** 1. У результаті комбінованої антигіпертензивної терапії із застосуванням іАПФ у пацієнтів із підвищеною активністю  $\alpha$ -1-ІП спостерігають збільшення рівня нетрипсиноподібної протеїнази, хімази та  $\alpha$ -2-МГ до нормального рівня.

2. У пацієнтів із низьким і нормальним вихідними рівнями  $\alpha$ -1-ІП на фоні використання тiazидних діуретиків, антагоністів кальцію та  $\beta$ -блокаторів підвищується активність протеїназ за рахунок участі трипсиноподібних ферментів.

3. Оцінка активності  $\alpha$ -1-ІП може бути критерієм прогнозу ефективності призначення іАПФ хворим на гіпертонічну хворобу в комбінації з ІХС.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Белова Л.А., Оглоблина О.Г., Чихладзе Н.М. и др. Химотрипсинподобные протеиназы и их роль в патогенезе артериальных гипертоний // *Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: Сб. научн. тр.* – Санкт-Петербург, 1998. – 1. – С.176-179.

2. Пат. 20171 Україна, МПК С 12 Q 1/38. Спосіб визначення активності протеїназ або їх інгібіторів в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, А.А. Дубінін (Україна). – Опубл. 25.12.97. – Бюл. № 6. – 2 с.

3. Самохіна Л.М., Коваль С.Н., Милославский Д.К., Гольдрин Е.Н.  $\alpha$ -Ингибитор протеиназ в оценке эффективности применения лозартана у больных с гипертонией // *Новые горизонты клиники внутренних болезней: Сб. научн. тр.* – Харьков, 1998. – С. 157-160.

4. Guthrie G.P. Angiotensin receptors: physiology and pharmacology // *Clin. Cardiol.* – 1995. – 18, № 6 (Suppl. 3). – P. 29-34.

5. Harvima I.T., Naukkarinen A., Paukkonen K. et al. Mast cell tryptase and chymase in developing and mature psoriatic lesions // *Arch. Dermatol. Res.* – 1993. – 285, № 4. – P. 184-192.

6. Hollenberg N.K. Implications of species difference for clinical investigation: studies on the renin-angiotensin system // *Hypertension.* – 2000. – 35, № 1. – P.150-154.

7. Lippoldt A., Paul M., Fuxe K., Ganten D. The brain renin-angiotensin system: molecular mechanisms of cell to cell interactions // *Clin. Exp. Hypertens.* – 1995. – 17, № 1-2. – P. 251-266.

8. Rolfs A., Weber-Rolfs I., Reqitz-Zaqrosek V. et al. Genetic polymorphisms of the angiotensin I type 1 (AT1) receptor gene // *Eur. Heart. J.* – 1994. – № 15 (Suppl. D). – P. 108-112.

9. Takai S., Jin D., Miyazaki M. Pathophysiological roles of chymase and effects of chymase inhibitor // *Nippon Yakurigaku Zasshi.* – 1999. – 114 (Suppl. 1). – P. 41-47.

10. Takai S., Jin D., Sakaguchi M., Miyazaki M. Chymase-dependent angiotensin II formation in human vascular tissue. // *Circulation.* – 1999. – 100, № 6. – P. 654-658.

11. Takai S., Miyazaki M. Role of angiotensin II-forming enzymes, angiotensin-converting enzyme and chymase // *Nippon. Rinsho.* – 1999. – 57, № 5. – P. 1078-1083.



12. Uehara Y., Urata H., Sasaguri M. et al. Increased chymase activity in internal thoracic artery of patients with hypercholesterolemia // Hypertension. – 2000. – 35, № 1 – P. 55-60.

13. Walter M., Sutton R.M., Schechter N.M. Highly efficient inhibition of human chymase by alpha(2)-macroglobulin // Arch. Biochem Biophys. – 1999. – 368, № 2. – P. 276-284.

## СИСТЕМА ПРОТЕИНАЗА-ИНГИБИТОР ПРОТЕИНАЗ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ТЕРАПИИ

Л.М. Самохина, Е.Н. Гольдрин, С.Н. Коваль  
ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Исследовали изменения в системе протеиназа – ингибитор протеиназ у больных гипертонической болезнью в комбинации с ишемической болезнью сердца (ИБС) в ходе антигипертензивной терапии.

У пациентов с повышенной активностью  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ ( $\alpha$ -1-ИП) наблюдали низкие уровни химазы и  $\alpha$ -2-макроглобулина ( $\alpha$ -2-МГ), которые нормализовались после проведения курса комбинированной терапии с применением ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (иАПФ). У больных с низким и нормальным исходными уровнями  $\alpha$ -1-ИП на фоне традиционных схем терапии с использованием тиазидных диуретиков, антагонистов кальция и  $\beta$ -блокаторов повышается активность протеиназ, скорее всего за счет трипсиноподобных ферментов. Отмечено наличие взаимосвязи между исследуемыми показателями до и после лечения и сделан вывод о возможности использования оценки активности  $\alpha$ -1-ИП с целью прогнозирования эффективности назначения иАПФ больным гипертонической болезнью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протеиназа, нетрипсиноподобные протеиназы, химаза, трипсин- и эластазоингибиторная активность  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ,  $\alpha$ -2-макроглобулин, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца.

## THE PROTEINASE – PROTEINASE INHIBITOR SYSTEM IN PATIENTS WITH HYPERTENSION UNDER ANTIHYPERTENSIVE THERAPY

L.M. Samokhina, Ye.M. Holdryn, S.M. Koval  
INSTITUTE OF THERAPY OF MEDICAL SCIENCE ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

### Summary

The changes in the proteinase – proteinase inhibitor system in patients with hypertension combined with ischemic heart disease (IHD) under antihypertensive therapy have been investigated.

In patients with a superactivity  $\alpha$ -1-proteinase inhibitor ( $\alpha$ -1-PI) observed low levels of chymase and  $\alpha$ -2-macroglobulin, which were normalised after the course of combined therapy with application of angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEi). The activity of proteinases in patients with low and normal initial levels of  $\alpha$ -1-PI was raised after the therapy of traditional schemes (thiazid diuretics, calcium antagonists,  $\beta$ -blockers) most likely because of trypsin-like enzymes. The interrelation of researched data before/after the treatment was marked and the conclusion about possibility of  $\alpha$ -1-PI activity estimation for prediction of efficiency of ACEi assignment for the patient with hypertension was made.

KEY WORDS: proteinase, nontrypsin-like proteinase, chymase, trypsin- and elastase- Inhibitory activity  $\alpha$ -1-proteinase inhibitor,  $\alpha$ -2-macroglobulin, hypertension, ischemic heart disease.

Отримано 15.05.2000 р.



## АНТИГІПЕРТЕНЗИВНА АКТИВНІСТЬ ОЛГОПЕПТИДНИХ ПРЕПАРАТІВ, ОТРИМАНИХ ПРИ ПРОТЕОЛІЗІ $\beta$ -КАЗЕЇНУ ЛАКТОКОКАМИ, У ЩУРІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Б.Л. Луговий, В.Г. Юкало, М.С. Гнатюк<sup>1</sup>

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. ПУЛЮЯ  
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО<sup>1</sup>

Вивчено вплив низькомолекулярних пептидів, отриманих при протеолізі  $\beta$ -казеїну протеолітично-активним штамом  $I_{12}$  підвиду *Lactococcus lactis subsp. lactis*, на показники артеріального тиску і структурні зміни частин серця у білих щурів з артеріальною гіпертензією. Встановлено, що після тривалого введення даних пептидних препаратів у гіпертензивних тварин відбуваються суттєве зниження артеріального тиску, істотне зменшення ступеня гіпертрофії частин серця та нормалізація їх просторових характеристик.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пептиди, казеїн, *Lactococcus*, артеріальна гіпертензія.

ВСТУП. Фізіологічна активність продуктів протеолізу білків казеїнового комплексу дозволяє по новому оцінити біологічну роль молочних продуктів [12], які мають високу харчову цінність, володіють рядом фізіологічних ефектів, впливають на функції майже всіх систем організму [9], проявляють антиканцерогенні властивості [10], регулюють обмін і зв'язування кальцію [15]. Більшість відомих на сьогодні фізіологічно-активних пептидів було виділено за допомогою травних протеаз – пепсину, трипсину і хімотрипсину, що дало змогу згодом встановити факт їх утворення з казеїну молока *in vivo* у травному тракті [14]. Утворення фізіологічно-активних пептидів можливе при протеолізі білків казеїнового комплексу під дією ферментних систем молочнокислих бактерій і молокозгортальних препаратів, тобто у кисломолочних продуктах ще до моменту потрапляння їх у шлунково-кишковий тракт [7]. Особливий інтерес у дослідників викликали казеїнові пептиди, які володіють антигіпертензивним ефектом (казокініни) [13], є інгібіторами ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ), попереджуючи утворення пресорного октапептиду – ангіотензину II, здійснюють інактивацію брадікініну та позитивно впливають на серцево-судинну систему [3, 8]. Для виявлення фізіологічної активності продуктів протеолізу  $\beta$ -казеїну нами розроблена система, що дозволяє відтворити умови молочнокислого процесу, при якому казеїн розщеплюється ферментними

системами молочнокислих бактерій підвиду *Lactococcus lactis ssp. lactis*, штами якого використовують у складі багатьох промислових заквасок, а також за участю пепсину і фромози – протеолітичних препаратів, що застосовуються при виробництві сирів. Отримані низькомолекулярні пептидні препарати  $\beta$ -казеїну володіють інгібіторним ефектом на АПФ *in vitro* [11]. Метою нашої роботи стало дослідження впливу олігопептидних препаратів на показники артеріального тиску і структурні зміни частин серця у білих щурів з артеріальною гіпертензією.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Гомогенний електрофоретично-чистий препарат  $\beta$ -казеїну отриманий методом диференційного фракціонування казеїну за допомогою сечовини і доочистки отриманого препарату шляхом використання іонообмінної хроматографії на колонках з ДЕАЕ-целюлозою [5] як субстрату протеолізу. В роботі застосували протеолітично-активний штам  $I_{12}$  *Lactococcus lactis subsp. lactis*, який володіє високими технологічними показниками і попередньо був нами відібраний серед інших штамів цього підвиду бактерій [6]. Протеоліз 1 % розчину  $\beta$ -казеїну в ацетатному буфері з рН 5,5 здійснювали додаванням 7 % (v/v) біомаси лактококів при їх концентрації  $10^{10}$  клітин/мл протягом 54 год при температурі 30 °С. Через 3 год від початку інкубації в середовище вносили лізоцим (ячний курячий, ЕС 3.2.1.17., Sigma), концентрація якого становила 0,008 % (w/v). Як антисептик використовували 0,05 мл толуолу, який вносили до зразка. Для оса-

© Б.Л. Луговий, В.Г. Юкало – к.б.н., М.С. Гнатюк – д.м.н., проф., 2000.



дження клітинних фракцій лактококів зразки центрифугували при 10000 g протягом 10 хв, супернатант заморожували і ліофільно висушували. Для отримання низькомолекулярних пептидних фракцій продуктів протеолізу β-казеїну ліофілізований препарат розчиняли в 0,01 М фосфатному буфері й піддавали гель-фільтрації на колонці із сефадексом G-25 (Fine, Pharmacia). Отримані низькомолекулярні пептидні фракції заморожували і ліофілізували.

Артеріальну гіпертензію моделювали на нелінійних білих щурах-самцях масою (210,3±0,8) г шляхом звуження черевної аорти над місцем відходження від неї ниркових артерій і додатковим введенням субкапсулярно в передню поверхню нирок 0,05 мл концентрованої оцтової кислоти [1]. Усі маніпуляції здійснювали в умовах тіопенталового наркозу (50 мг/кг).

В експерименті використано 53 білих щури-самці однакового віку та маси, які були розділені на три групи. 1-а група включала 16 інтактних експериментальних тварин, які знаходились у звичайних умовах віварію, 2-а – 18 щурів з експериментальною гіпертензією, 3-я – 19 тварин з гіпертензією, яку коригували щоденним внутрішньошлунковим введенням

олігопептидних препаратів у дозі 10 мг/кг протягом 2-х тижнів. Евтаназію білих щурів здійснювали швидкою декапітацією через місяць від початку експерименту. Артеріальний тиск вимірювали у хвостовій артерії за методом А.Х. Когана [4]. При морфологічному дослідженні серця використовували окреме зважування його частин, планіметрію їхніх ендокардіальних поверхонь та гістостереометрію [2]. Останню здійснювали на ізольованих кардіоміоцитах частин серця. Кількісні показники оброблялися статистично. Різницю між порівнюваними групами визначали за критерієм Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Отримані результати показали, що артеріальний тиск у хвостовій артерії інтактних білих щурів становив (98,1±2,1) мм рт. ст., а при змодельованій артеріальній гіпертензії (142,0±2,7) мм рт. ст. Наведені величини між собою статистично достовірно відрізнялися (p<0,01), і останній цифровий показник перевищував попередній на 45,0 %. При корекції артеріальної гіпертензії досліджуваними середніми вона знижувалася до (116,2±2,4) мм рт. ст., тобто майже на 22,5 %.

Таблиця 1 – Морфометрична характеристика серця в експериментальних тварин

Показник	Групи тварин		
	1-а	2-а	3-а
Чиста маса серця, мг	1040,1±15,0	1646,0 ± 37,2***	1305,2 ± 23,1**
Маса лівого шлуночка, мг	640,9 ± 9,3	1121,6 ± 15,0***	841,9 ± 12,6**
Маса правого шлуночка, мг	296,1 ± 4,5	395,3 ± 8,4***	345,3 ± 8,1**
Маса лівого передсердя, мг	43,8 ± 1,2	61,4 ± 1,6***	52,3 ± 1,4*
Маса правого передсердя, мг	46,2 ± 1,5	53,6 ± 1,5*	52,1 ± 1,5*
Маса міжпередсердної перегородки, мг	13,10 ± 0,30	14,20± 0,30*	13,60 ± 0,40
Шлуночковий індекс	0,462 ± 0,003	0,353 ± 0,002***	0,410 ± 0,003***
Відсоток маси лівого шлуночка, %	61,6 ± 0,4	68,1 ± 1,4**	64,5 ± 1,2*
Відсоток маси правого шлуночка, %	28,5 ± 0,6	24,0 ± 0,5**	26,4 ± 0,6*
Відсоток маси лівого передсердя, %	4,21 ± 0,12	3,73 ± 0,09*	4,01 ± 0,12
Відсоток маси правого передсердя, %	4,44 ± 0,15	3,26 ± 0,08**	3,99 ± 0,15*
Площа стінки лівого шлуночка, мм <sup>2</sup>	148,80 ± 2,40	190,60 ± 3,90***	152,60 ± 3,60
Площа стінки правого шлуночка, мм <sup>2</sup>	18,3 ± 2,2	198,6 ± 4,2**	181,9 ± 5,1
Планіметричний індекс	0,803 ± 0,013	0,960 ± 0,03*	0,840 ± 0,039
Площа стінки лівого передсердя, мм <sup>2</sup>	45,70 ± 0,90	54,80 ± 1,20*	48,60 ± 1,40
Площа стінки правого передсердя, мм <sup>2</sup>	52,20 ± 1,20	52,60 ± 1,50*	54,60 ± 1,50
Планіметричний індекс передсердь	0,870 ± 0,012	0,950 ± 0,010**	0,890 ± 0,021
Діаметр кардіоміоцитів лівого шлуночка, мкм	28,40 ± 0,60	39,90 ± 0,84***	31,10 ± 0,72*
Діаметр кардіоміоцитів правого шлуночка, мкм	26,30 ± 0,48	31,20 ± 0,70***	27,30 ± 0,51
Діаметр кардіоміоцитів лівого передсердя, мкм	16,50 ± 0,36	19,64 ± 0,39**	16,90 ± 0,36
Діаметр кардіоміоцитів правого передсердя, мкм	16,45 ± 0,33	19,30 ± 0,42**	17,80 ± 0,51*

Примітка. Зірочкою позначено величини, які достовірно відрізняються від контрольних (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001).



Слід зауважити, що змодельована артеріальна гіпертензія супроводжувалася гіперфункцією та гіпертрофією частин серця (табл. 1). При цьому спостерігали збільшення маси всіх відділів серцевого м'яза з переважаним зростанням маси лівого шлуночка. Останнє підтверджувалося динамікою шлуночкового індексу (відношення маси правого шлуночка до маси лівого) та відсотком мас шлуночків. Так, при змодельованій артеріальній гіпертензії шлуночковий індекс знижувався від  $0,462 \pm 0,003$  до  $0,354 \pm 0,002$ , ( $p < 0,01$ ), а відсоток маси лівого шлуночка зростав від  $(61,6 \pm 0,9) \%$  до  $(68,1 \pm 1,4) \%$ , тобто майже на 6,5 %.

Необхідно зауважити, що при артеріальній гіпертензії змінювалися також просторові характеристики частин серця. Так, площа ендокардіальної поверхні лівого шлуночка зростала на 28,1 %, правого – на 10,1 %, лівого передсердя – на 19,9 %, правого передсердя – на 9,7 %.

Наведені величини вказують на те, що при змодельованій артеріальній гіпертензії виникають гіперфункція та гіпертрофія частин серця з переважаним збільшенням маси та розширенням лівого шлуночка. Про переважачу гіперфункцію лівого шлуночка свідчило також вимірювання діаметрів кардіоміоцитів. Так, у змодельованих умовах експерименту діаметр кардіоміоцитів лівого шлуночка зростав на 38,1 %, правого – на 18,6 %, лівого передсердя – на 19,0 %, правого передсердя – на 17,3 %.

Виявлене зниження артеріального тиску в експериментальних тварин 3-ї групи супроводжувалося суттєвим покращанням структури міокарда. Так, при некоригованій артеріальній гіпертензії маса серця зростала від  $(1040,1 \pm 15,0)$  мг до  $(1646,0 \pm 37,2)$  мг, тобто майже на 57,7 %, а при корекції даного стану – лише на 25,5 % (табл. 1). У 3-й групі спостережень зменшувалась також маса лівого шлуночка. Вказаний масометричний параметр зменшувався від  $(1121,6 \pm 15,0)$  мг до  $(841,9 \pm 12,6)$  мг, тобто майже на 24,9 %.

Аналогічну тенденцію спостерігали при аналізі масометричних показників правого шлуночка, лівого та правого передсердь. При цьому також покращувався шлуночковий індекс. Останній підвищувався від  $0,353 \pm 0,002$  до  $0,410 \pm 0,003$ . Слід зауважити, що даний показник ще суттєво відрізнявся від контрольного, але його зростання свідчило про покращання масометричного співвідношення між лівим та правим шлуночками серця.

Просторові характеристики частин серця у спостереженнях 3-ї групи істотно покращувалися. При цьому вони суттєво не відрізнялися від контрольних величин (табл. 1). У цих умовах експерименту нормалізувалися також співвідношення між просторовими характеристиками камер серця, про що свідчили зміни планіметричного індексу (відношення між площами стінок лівого та правого шлуночків) і планіметричного індексу передсердь (відношення між площами лівого та правого передсердь).

Аналіз діаметрів кардіоміоцитів частин серця показав, що вони в 3-й групі щурів ще суттєво відрізнялися від контрольних величин, але значною мірою були зниженими, порівнянно із аналогічними показниками 2-ї групи спостережень. Це вказує на те, що гіпертрофія серця в 3-й групі тварин ще зберігалася, але ступінь її був значно нижчим, ніж у щурів, у яких гіпертензія не коригувалася досліджуваними середниками.

**ВИСНОВОК.** Експериментальна артеріальна гіпертензія супроводжується гіперфункцією та вираженою гіпертрофією частин серця з переважаним збільшенням маси та розширенням лівого шлуночка. Корекція артеріальної гіпертензії низькомолекулярними пептидними препаратами, отриманими при протеолізі  $\beta$ -казеїну  $prt^+$  штамом  $I_{12}$  молочнокислих бактерій підвиду *Lactococcus lactis subsp. lactis* призводить до суттєвого зниження артеріального тиску, істотного зменшення ступеня гіпертрофії частин серця та нормалізації їхніх просторових характеристик.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. А.с. 1645987 А1 СССР, G 09 В 23/28. Способ моделирования артериальной гипертензии / М.С. Гнатюк, Р.И. Вайда, Л.А. Гнатюк, А.Р. Вайда. – Оpubл. 30.04.91. – Бюл. № 16. – 2 с.
2. Гнатюк М.С., Белікова Н.О., Лісничук Н.Є. та ін. Морфометрична характеристика серця зайця-русака // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету. Серія: Біологія. – 2000. – № 2 (9). – С. 33-36.

3. Дриновець Й. Профілактичне та лікувальне застосування інгібіторів АПФ // Медицина світу. – 1998. – 4, № 3. – С. 128-135.

4. Коган А.Х. Новый плетизмометрический аппарат (с автоматическим электроподогревом) для конвейерного определения артериального давления у ненаркотизированных крыс бескровным путём // Бюл. эксперим. биол. – 1959. – 48, № 10. – С. 109-113.



5. Юкало В.Г., Луговий Б.Л. Характеристика методів препаративного виділення  $\beta$ -казеїну // Експерим. та клін. фізіол. і біохім. – 1998. – № 3/4. – С. 26-29.
6. Юкало В.Г., Луговий Б.Л., Дольна М.М. Характеристика фізіологічних властивостей штамів *Lactococcus lactis ssp. lactis* // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету. Серія: Біологія. – 2000. – № 2 (9). – С. 70-73.
7. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Протеоліз казеїнових ферментами молочнокислих стрептококів // Всесоюзная конференция "Химические превращения пищевых полимеров": Тез. докл. – Калининград, 1991. – С.22.
8. Francis G.S. ACE inhibition in cardiovascular disease // *New England Journal of Medicine*. – 2000. – 342, № 3. – P.201-202.
9. Fiat A-M., Migliore-Samour D., Jolles P. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities// *J.Dairy Sci.* – 76, № 1. – P. 301-310.
10. Hosono A., Kashina T., Kada T. Antimutagenic properties of lactic acid – cultured milk on chemical and fecal mutagens // *J. Dairy Sci.* – 1986. – 69, № 9. – P. 2237-2242.
11. Luhovyy B., Dolna M. The peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme derived from  $\beta$ -casein after proteolysis by *Lactococcus lactis ssp. lactis* // IV Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених: Тези доп. – Тернопіль, 2000. – С. 285-286.
12. Maubois J.L., Leonil J. Peptides du lait a activite biologique // *Lait*. – 1989. – 69, № 4. – P. 245-269.
13. Meisel H. Casokinins as bioactive peptides in the primary structure of casein // *Food Proteins – Structure Functionality*. – New York: VCH Weinheim, 1993. – P. 67-75.
14. Meisel H., Frister H. Chemical characterization of bioactive peptides from in vivo digests of casein // *Journal of Dairy Research*. – 1989. – 56, № 3. – P. 343-349.
15. Naito H., Kawakami A., Imamura T. In vivo formation of phosphopeptide with calcium-binding property in small intestinal tract of the rat fed on casein // *Agr. Biol. Chem.* – 1972. – 36, № 3. – P. 409-415.

## АНТИГИПЕРТЕНЗИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОЛИГОПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРОТЕОЛИЗОМ $\beta$ -КАЗЕИНА ЛАКТОКОККАМИ, У КРЫС С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Б.Л. Луговий, В.Г. Юкало, М.С. Гнатюк<sup>1</sup>

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И. ПУЛЮЯ  
ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО<sup>1</sup>

### Резюме

Изучено влияние низкомолекулярных пептидов, полученных при протеолизе  $\beta$ -казеина протеолитически-активным штаммом  $I_{12}$  подвида *Lactococcus lactis subsp. lactis*, на показатели артериального давления и структурные изменения частей сердца у белых крыс с артериальной гипертензией. Установлено, что после длительного введения данных пептидных препаратов у гипертензивных животных существенно снижается артериальное давление, уменьшается степень гипертрофии частей сердца и нормализуются их пространственные характеристики.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пептиды, казеин, *Lactococcus*, артериальная гипертензия.

## ANTYHYPERTENSIVE ACTIVITY OF OLIGOPEPTIDES DERIVED AFTER PROTEOLYSIS OF $\beta$ -CASEIN BY LACTOCOCCI ON HYPERTENSIVE RATS

B.L. Luhovyy, V.G. Yukalo, M.S. Hnatyuk<sup>1</sup>

TERNOPIL STATE TECHNICAL UNIVERSITY BY I. PULUI  
TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

Oligopeptides derived after proteolysis of  $\beta$ -casein by  $prt^+$  strain  $I_{12}$  of *Lactococcus lactis subsp. lactis* decrease the arterial blood pressure and reduce cardiac hypertrophy after chronic administration into hypertensive rats.

KEY WORDS: peptides, casein, *Lactococcus*, arterial hypertension.

Отримано 27.06.2000 р.



## ПЕРОКСИДНІ МОДИФІКАЦІЇ ЛІПОПРОТЕЇНІВ ТА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ АТЕРОГЕНЕЗУ В ЩУРІВ ПРИ ОКСИДАТИВНОМУ СТРЕСІ, ВИКЛИКАНОМУ ВВЕДЕННЯМ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ\*

П.А. Каліман<sup>1</sup>, С.В. Оксененко<sup>2</sup>, А.Л. Загайко<sup>1</sup>  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н.КАРАЗИНА<sup>1</sup>  
НДІ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ<sup>2</sup>

Вивчено вплив хлориду кобальту та  $\alpha$ -токоферолу на процеси переокислення ліпідів та деякі показники атерогенезу в щурів. Активацію вільнорадикального окислення визначали за динамікою накопичення продуктів пероксидації ліпідів та за рівнем  $\alpha$ -токоферолу в складі ліпопротеїнів сироватки крові. Досліджували такі атерогенні показники як спектр ліпопротеїнів та склад ліпідів стінки аорти.

Після введення тваринам хлориду кобальту в дозах, які викликають розвиток оксидативного стресу, збільшується рівень загальних ліпопротеїнів крові з підвищенням вмісту атерогенних ліпопротеїнових фракцій, підвищується рівень пероксидно-модифікованих фракцій, особливо  $\beta$ - та пре- $\beta$ -ЛП, а також концентрація загальних ліпідів у стінці аорти, особливо тригліцеридів, вільного та етерифікованого холестеролу.

Попереднє введення  $\alpha$ -токоферолу загалом виконує захисну функцію, хоча дещо активує процеси переокислення ліпідів у ліпопротеїнах та може призводити до змін ліпідного складу стінки аорти.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпопротеїни, ліпіди стінки аорти, оксидативний стрес, хлорид кобальту,  $\alpha$ -токоферол.

**ВСТУП.** Кобальт відносять до есенціальних мікроелементів, проте в деяких умовах він може надходити до організму в надлишкових кількостях і виявляти токсичну дію [7]. Введення щурам хлориду кобальту в дозах, що перевищують фізіологічні, як і вплив багатьох інших екстремальних чинників, викликає активацію вільнорадикального окислення, що призводить до порушення рівноваги в системі активні метаболіти кисню  $\leftrightarrow$  антиоксидний захист (АМК  $\leftrightarrow$  АОЗ) [23], що супроводжується розвитком оксидативного

стресу [13]. При цьому активується ряд захисних реакцій з боку багатьох метаболічних шляхів, що спрямовано на відновлення гомеостазу й підтримку функціональної активності клітини [19].

Раніше нами було показано, що при оксидативному стресі, який виникає внаслідок введення щурам хлориду кобальту, відбувається перерозподіл ліпопротеїнового профілю в бік підвищення вмісту атерогенних фракцій [10]. Крім того, з'являються пероксидно-модифіковані форми ліпопротеїнів.

Окислені ЛНГ володіють вираженими аутоімунними властивостями, завдяки чому вони відкладаються в стінках судин у вигляді комплексів з імуноглобулінами, захоплюються скевенджер-рецепторами макрофагів [16, 25] в ендотелії судин та перетворюються на пінисті клітини. Крім того, окислені ЛНГ беруть участь в активації колагеніндукованої агрегації тромбоцитів [5, 18], викликаючи закупорювання кровоносних судин. Усе це в сукупності є важливим елементом атерогенезу.

З огляду на те, що природним антиоксидантом ліпідної фази є  $\alpha$ -токоферол [11], ми досліджували вплив  $\alpha$ -токоферолу та

\* У роботі прийнято такі скорочення й позначення: ВХ – вільний холестерол, ДГ – діацилгліцериди, ЕХ – ефіри холестеролу, ЗЛ – загальні ліпіди, ВЖК – вільні жирні кислоти, ЗЛП – загальні ліпопротеїни, ЗФЛ – загальні фосfolіпіди, ЛВГ – ліпопротеїни високої густини, ЛДНГ – ліпопротеїни дуже низької густини, ЛНГ – ліпопротеїни низької густини, ЛП – ліпопротеїни, ЛФЛ – лізофосfolіпіди, ЛФХ – лізофосфатидилхолін, МГ – моногліцериди, ПААГ – поліакриламідний гель, ПОЛ – пероксидне окислення ліпідів, СМ – сфінгомієлін, ТГ – тригліцериди, ФЕ – фосфатидилетаноламін, ФІ – фосфатидилінозитол, ФЛ – фосfolіпіди, ФС – фосфатидилсерин, ФХ – фосфатидилхолін, ХМ – хіломікрони.

© П.А. Каліман – д.б.н., проф., С.В. Оксененко, А.Л. Загайко – к.б.н., 2000.



сумісного його введення з хлоридом кобальту на вміст ліпопротеїнів і показники ПОЛ ліпопротеїнів крові, а також спектр загальних і нейтральних ліпідів аорти щурів у різні терміни після введення солі.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У роботі використано 42 щури-самці лінії Вістар, із масою тіла 150-180 г.

Хлорид кобальту вводили одноразово внутрішньочеревно в сублетальній дозі (3 мг/100 г маси тіла) [12]. Щурів декапітували через 2 і 24 год після ін'єкції.  $\alpha$ -Токоферол вводили одноразово внутрішньом'язово з розрахунку 5 мг/100 г маси тіла [24], час експозиції становив 4 і 26 год. Сумісну дію  $\alpha$ -токоферолу й хлориду кобальту оцінювали після введення  $\alpha$ -токоферолу за 2 год до введення хлориду кобальту. Тварин декапітували через 4 і 26 год після першої ін'єкції. Тканину аорти відбирали в ділянці дуги, розтирали в ступці з порошком оксиду алюмінію при температурі 4-6 °С.

Екстракцію ліпідів проводили за методом Блайя і Дайера [22]. Вміст ЗЛ визначали в реакції з концентрованою сірчаною кислотою [9]. Ліпіди фракціонували за методом тонкошарової хроматографії на силікагелевих пластинках "Silufol" у суміші гептан:діетиловий ефір:крижана оцтова кислота (60:40:2) [3]. Пластини проявляли в парах йоду, плями відповідних фракцій зішкрібали, елюювали сумішшю хлороформ:метанол (1:2), елюати випаровували. Вміст МГ, ДГ, ТГ визначали за реакцією із хлоридним фенолгідрозом [29], кількість ВЖК – одержанням відповідних солей міді й наступною їх реакцією з діетилдітіокарбаматом. Вміст ВХ і ЕХ визначали за реакцією з хлоридним залізом [17].

Фосфоліпіди розділяли за методом тонкошарової хроматографії в суміші хлороформ:метанол:вода (65:25:4), кількісне визначення фосфоліпідних фракцій проводили за [28], вміст ЗФЛ розраховували підсумовуванням концентрацій окремих фосфоліпідних фракцій. Результати виражали в мг/г тканини.

Вміст  $\beta$ +пре- $\beta$ -ЛП у сироватці крові визначали турбідиметричним методом [14].

ЛП сироватки крові фракціонували за методом диск-електрофорезу у вертикальних пластинках ПААГ [4] розміром 160×140×2 мм. Після фракціонування ЛП сироватки крові фарбували розчином судану чорного 10 В в етиленгліколі, барвник елюювали сумішшю крижаної оцтової кислоти й етанолу (1:3) із додецилсульфатом натрію протягом 1 год при періодичному струшуванні. Оптичну густину

елюата визначали спектрофотометрично за допомогою "СФ-26" при 595 нм [4]. На основі співвідношення оптичних густин розраховували співвідношення окремих фракцій ЛП. Абсолютний вміст кожної фракції розраховували, використовуючи дані про вміст  $\beta$ - і пре- $\beta$ -ЛП, отримані турбідиметричним методом.

Фракції ЛВГ і ЛНГ+ЛДНГ розділяли центрифугуванням (30 хв, 8000 об/хв) сироватки крові, до якої попередньо додавали розчини гепарину й хлориду кальцію для переведення ЛП, що містять апо-В (ЛНГ+ЛДНГ), у нерозчинну форму [17]. У виділених таким способом фракціях визначали спектрофотометрично концентрацію ізольованих подвійних зв'язків [8], дієнових кон'югат (у гептан-ізопропанольних екстрактах) [20], кетодієнів і сполучених триєнів [8], загальних гідропероксидів (реакція з тіоціанатом амонію) [20] і  $\alpha$ -токоферолу [1].

Отримані результати піддавали статистичній обробці за методом Фішера з використанням критерію Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Відомо, що щури не схильні до атеросклерозу. Це пов'язано зі сприятливим співвідношенням вмісту атерогенних і антиатерогенних фракцій ліпопротеїнів [15]. Проте введення хлориду кобальту стимулює значне підвищення рівня загальних ЛП у сироватці крові вже до 2 год експерименту (табл. 1). Крім того, співвідношення ЛП-фракцій зрушується на користь атерогенних ( $\beta$ - і пре- $\beta$ -ЛП).

Активация вільнорадикального окислення, що індукована іонами кобальту, призводить до істотної зміни складу ЛП (табл. 2, 3): вже до 2 год експерименту вміст ізольованих подвійних зв'язків зменшується в усіх ЛП-фракціях сироватки крові, причому в  $\beta$ - і пре- $\beta$ -ЛП їх зниження більш суттєві.

Привертає увагу динаміка  $\alpha$ -токоферолу: в  $\alpha$ -ЛП,  $\beta$ - і пре- $\beta$ -ЛП його вміст різко зменшується до 2 год (табл. 2, 3). Зникнення антиоксидантів, що характерне для окислативно-модифікованих ліпопротеїнів і пов'язане з вичерпанням  $\alpha$ -токоферолу, робить ЛП ще більш схильними до окислення. Як свідчать наведені дані (табл. 2, 3),  $\alpha$ -ЛП мають первісно в 3 рази вищий рівень  $\alpha$ -токоферолу, ніж  $\beta$ - і пре- $\beta$ -ЛП, із чим може бути пов'язана відома антиоксидна дія перших [15].

Через добу після впливу ми виявили стабілізацію показників ПОЛ у  $\alpha$ -ЛП фракції, що, можливо, вказує на більшу інтенсивність їх поглинання печінкою [16].



Таблиця 1 – Вплив хлориду кобальту та  $\alpha$ -токоферолу на вміст ліпопротеїнів у сироватці крові щурів (мг/мл) ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Фракції ЛП	Контроль	Co <sup>2+</sup> , 2 год	Co <sup>2+</sup> +ТФ, 2 год	Co <sup>2+</sup> , 24 год	Co <sup>2+</sup> +ТФ, 24 год
$\alpha_1$ -ЛП	0,47±0,02	1,11±0,03 <sup>a</sup>	1,15±0,05 <sup>a</sup>	1,35±0,09 <sup>a</sup>	1,46±0,03 <sup>a</sup>
$\alpha_2$ -ЛП	0,52±0,01	1,42±0,05 <sup>a</sup>	1,67±0,09 <sup>a,c</sup>	1,41±0,02 <sup>a</sup>	1,99±0,13 <sup>a,c</sup>
$\beta$ -ЛП	0,99±0,03	2,39±0,11 <sup>a</sup>	0,65±0,03 <sup>a,c</sup>	2,69±0,05 <sup>a</sup>	1,49±0,11 <sup>a,c</sup>
Пре- $\beta$ -ЛП	0,75±0,03	1,90±0,19 <sup>a</sup>	1,63±0,09 <sup>a</sup>	2,00±0,05 <sup>a</sup>	1,99±0,09 <sup>a</sup>
ХМ	0,19±0,02	0,11±0,04 <sup>a</sup>	0,25±0,03 <sup>c</sup>	0,09±0,02 <sup>a</sup>	0,15±0,02
Загальні ЛП	2,75±0,03	6,53±0,02 <sup>a</sup>	5,30±0,08 <sup>a,c</sup>	6,11±0,09 <sup>a</sup>	6,93±0,14 <sup>a,c</sup>

Примітка. а – достовірні зміни, порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ),  
с – достовірні зміни, порівняно з Co<sup>2+</sup> ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 2 – Вплив хлориду кобальту та  $\alpha$ -токоферолу на показники перекисного окислення ліпідів  $\alpha$ -ліпопротеїнів сироватки крові щурів ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Показники ПОЛ	Контроль	Co <sup>2+</sup> , 2 год	Co <sup>2+</sup> +ТФ, 2 год	Co <sup>2+</sup> , 24 год	Co <sup>2+</sup> +ТФ, 24 год
Ізольовані подвійні зв'язки, $\Delta E$ /мл	5,69±0,37	2,03±0,08 <sup>a</sup>	3,71±0,3 <sup>a</sup>	5,59±0,36	4,99±0,38
Дієнові кон'югати, нмоль/мл	14,19±0,86	22,15±1,36 <sup>a</sup>	51,06±1,83 <sup>a,c</sup>	18,22±0,93 <sup>a</sup>	12,15±0,88 <sup>c</sup>
Кетодієни й сполучені триєни, $\Delta E$ /мл	0,93±0,08	1,99±0,12 <sup>a</sup>	1,73±0,12 <sup>a</sup>	0,99±0,09	1,14±0,08
Загальні гідроперекиси, нмоль/мл	50,03±1,14	185,83±3,16 <sup>a</sup>	215,93±2,84 <sup>a,c</sup>	55,16±1,93	58,85±3,07
$\alpha$ -токоферол, нмоль/мл	9,98±0,74	0,32±0,02 <sup>a</sup>	5,88±0,53 <sup>a,c</sup>	6,85±0,53 <sup>a</sup>	14,32±0,36 <sup>a,c</sup>

Примітка. а – достовірні зміни, порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ),  
с – достовірні зміни, порівняно з Co<sup>2+</sup> ( $p \leq 0,05$ ).

Відомо, що окислення  $\beta$ -ЛП супроводжується також зміною їх фізичних і біологічних властивостей. Внаслідок накопичення негативно заряджених продуктів ПОЛ та окислення апобілків збільшується негативний заряд  $\beta$ -ЛП, що було виявлено нами при проведенні електрофорезу. Разом з тим відомо, що накопичення негативно заряду збільшує афінність до сквенджер-рецепторів макрофагів [16] і посилює поглинання модифікованих ЛП, що також може призводити до розвитку атеросклерозу.

Отримані нами експериментальні дані (табл. 4) підтверджують, що хлорид кобальту вже через 2 год після введення індукує ліпідоз аорти у щурів, призводячи до накопичення холестеролу і його ефірів. Крім того, виявлене збільшення вмісту ТГ через 24 год після введення хлориду кобальту свідчить про інтенсивне надходження ЛП, багатих на ТГ, до судинної стінки. Підвищення рівня  $\beta$ -ЛП призводить до збільшення загального вмісту холестеролу в стінці судин. Збільшення вмісту МГ і ДГ внаслідок введення солі кобальту, можливо, відбувається в результаті активації

ліпопротеїнілази – ферменту, що діє на ТГ  $\beta$ -ЛП з утворенням ВЖК. Активація ліполітичних ферментів – відома ланка стрес-реакції [16], яка спрямована на забезпечення тканин джерелами енергії.

Виявлено, що рівень ЗФЛ через 2 год після введення хлориду кобальту підвищується, що відбувається, головним чином, за рахунок збільшення вмісту їх лізоформ (табл. 5). Останній відіграє важливу роль в атерогенезі, активуючи проліферацію макрофагів. Крім того, з даних літератури відомо, що пригнічення пероксидації затримує гідроліз ФХ, а пригнічення фосфоліпазної активності знижує рівень пероксидації [26]. Нами було встановлено, що накопичення в атерогенних фракціях ЛП продуктів ПОЛ корелює з вмістом лізоформ ФЛ, джерелом походження яких є як ФЛ мембран судинних клітин, так, можливо, і ФЛ ліпопротеїдних часток.

Рівень СМ через 2 год після введення хлориду кобальту знижується, а ФХ – підвищується, що свідчить про активацію синтезу сполук, які містять холін, із переважним утворенням ФХ [16]. Можливо, підвищення



Таблиця 3 – Вплив хлориду кобальту та  $\alpha$ -токоферолу на показники перекисного окислення ліпідів у сумарній фракції  $\beta$ - і пре- $\beta$ -ліпопротеїнів сироватки крові щурів ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Показники ПОЛ	Контроль	$Co^{2+}$ , 2 год	$Co^{2+}+T\Phi$ , 2 год	$Co^{2+}$ , 24 год	$Co^{2+}+T\Phi$ , 24 год
Ізольовані подвійні зв'язки, $\Delta E/мл$	4,29 $\pm$ 0,41	0,96 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	0,71 $\pm$ 0,05 <sup>a,c</sup>	1,96 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	1,53 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
Дієнові кон'югати, нмоль/мл	15,76 $\pm$ 0,93	90,03 $\pm$ 2,12 <sup>a</sup>	111,76 $\pm$ 2,81 <sup>a</sup>	82,14 $\pm$ 4,47 <sup>a</sup>	85,76 $\pm$ 1,47 <sup>a</sup>
Кетодієни й сполучені триєни, $\Delta E/мл$	1,92 $\pm$ 0,16	5,07 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	7,65 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	3,03 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	2,24 $\pm$ 0,27
Загальні гідроперекиси, нмоль/мл	73,15 $\pm$ 2,47	236,42 $\pm$ 6,18 <sup>a</sup>	258,83 $\pm$ 6,74 <sup>a</sup>	78,16 $\pm$ 3,16	147,53 $\pm$ 3,76 <sup>a,c</sup>
$\alpha$ -Токоферол, нмоль/мл	3,62 $\pm$ 0,35	Слиди <sup>a</sup>	5,00 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	0,35 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	3,99 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup>

Примітка. а – достовірні зміни, порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ),  
с – достовірні зміни, порівняно з  $Co^{2+}$  ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 4 – Вплив хлориду кобальту та  $\alpha$ -токоферолу на спектр загальних і нейтральних ліпідів аорти щурів (мг/г тканини) ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Фракції	Контроль	$Co^{2+}$ , 2 год	$Co^{2+}+T\Phi$ , 2 год	$Co^{2+}$ , 24 год	$Co^{2+}+T\Phi$ , 24 год
ЗЛ	11,65 $\pm$ 0,28	16,19 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>	15,04 $\pm$ 0,48 <sup>a,b</sup>	19,09 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	10,28 $\pm$ 0,34 <sup>a,c</sup>
МГ	0,72 $\pm$ 0,04	0,91 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,69 $\pm$ 0,03 <sup>a,c</sup>	1,32 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,66 $\pm$ 0,07 <sup>a,c</sup>
ВХ	0,69 $\pm$ 0,06	1,02 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	1,35 $\pm$ 0,04 <sup>a,b,c</sup>	0,77 $\pm$ 0,03	1,48 $\pm$ 0,04 <sup>a,b,c</sup>
ДГ	0,47 $\pm$ 0,05	1,12 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,67 $\pm$ 0,03 <sup>a,c</sup>	1,43 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,63 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>
ВЖК	3,60 $\pm$ 0,04	2,89 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,53 $\pm$ 0,03 <sup>a,b,c</sup>	1,84 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,69 $\pm$ 0,04 <sup>a,b,c</sup>
ТГ	1,08 $\pm$ 0,03	2,84 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	5,10 $\pm$ 0,05 <sup>a,b,c</sup>	6,77 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	1,51 $\pm$ 0,07 <sup>a,b,c</sup>
ЕХ	0,72 $\pm$ 0,04	2,10 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,21 $\pm$ 0,04 <sup>a,b,c</sup>	1,88 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	1,53 $\pm$ 0,05 <sup>a,b,c</sup>

Примітка. а, в, с – зміни достовірні, порівняно відповідно з контролем, введенням  $\alpha$ -токоферолу і хлориду кобальту ( $p \leq 0,05$ ).

вмісту ФХ відображає адаптивний характер енергетичного обміну, що пов'язаний із переключенням метаболізму при оксидативному стресі на утилізацію жирів [14] шляхом активації кетогенезу. Ключовим ферментом утилізації кетонів тіл у периферичних тканинах є ліпідзалежний фермент  $\beta$ -гідроксибутиратдегідрогеназа, активність якого регулюється ФХ [27].

У групі тварин, яким вводили  $\alpha$ -токоферол, також виявлено істотні зміни вивчених показників. Так, у них відзначено збільшення вмісту ХМ у сироватці крові до 4-ї год ((0,27 $\pm$ 0,03) мг/г тканини, порівняно з контролем – (0,19 $\pm$ 0,02) мг/г тканини).

Через 26 год після введення  $\alpha$ -токоферолу рівень загальних ЛП підвищується, головним чином, за рахунок збільшення вмісту  $\beta$ -ЛП у сироватці крові (від (0,99 $\pm$ 0,03) до (2,03 $\pm$ 0,18) мг/г тканини), рівень же  $\alpha$ -ЛП залишається практично без змін. Проте в аорті 26-годинна експозиція з  $\alpha$ -токоферолом не викликала підвищення вмісту ВХ і його ефірів, що може

бути результатом активації окислення ВХ і пероксидації ЖК, що входять до складу ЕХ.

Через 4 год після введення  $\alpha$ -токоферолу виявлено збільшення його концентрації у всіх досліджуваних ЛП-фракціях (табл. 6, 7). Це можна пояснити включенням екзогенного  $\alpha$ -токоферолу в ЛП-частки, у складі яких він транспортується і функціонує.

Проте надмірне збільшення концентрації  $\alpha$ -токоферолу призводить до підвищення рівня його радикалів, що спроможні стимулювати процеси пероксидації [2]. Нами показано, що введення  $\alpha$ -токоферолу індукувало збільшення вмісту продуктів ПОЛ і зниження вмісту ізольованих подвійних зв'язків (найбільш інтенсивно в  $\beta$ - і пре- $\beta$ -ЛП сироватки крові) (табл. 6, 7). Зменшення концентрації ЗФЛ у судинній стінці підтверджує, що 4-годинна експозиція з  $\alpha$ -токоферолом викликає активацію ПОЛ. Виявлене різке зниження (у 3 рази) рівня ВЖК через 4 ((1,12 $\pm$ 0,06) мг/г тканини) і 26 год ((1,11 $\pm$ 0,03) мг/г тканини), порівняно з контролем ((3,60 $\pm$ 0,04) мг/г тканини), після



Таблиця 5 – Вплив хлориду кобальту та  $\alpha$ -токоферолу на спектр фосфоліпідів аорти щурів (мг/г тканини) ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Фракції ФЛ	Контроль	Co <sup>2+</sup> , 2 год	Co <sup>2+</sup> +ТФ, 2 год	Co <sup>2+</sup> , 24 год	Co <sup>2+</sup> +ТФ, 24 год
ЗФЛ	4,38±0,10	5,31±0,13 <sup>a</sup>	4,49±0,39	5,08±0,55	3,78±0,33 <sup>b,c</sup>
ЛФЛ	0,49±0,02	1,24±0,03 <sup>a</sup>	0,92±0,04 <sup>a,b,c</sup>	0,83±0,05 <sup>a</sup>	1,13±0,05 <sup>a,b,c</sup>
СМ	0,85±0,02	0,73±0,03 <sup>a</sup>	1,08±0,03 <sup>a,b,c</sup>	1,07±0,21	0,70±0,07 <sup>b</sup>
ФХ	0,87±0,02	1,06±0,03 <sup>a</sup>	0,90±0,04 <sup>c</sup>	1,37±0,30	0,70±0,05 <sup>a,b</sup>
ФС+ФІ	0,94±0,03	1,09±0,04 <sup>a</sup>	0,83±0,05 <sup>c</sup>	0,92±0,06	0,63±0,08 <sup>a,b</sup>
ФЕ	1,23±0,03	1,19±0,04	0,76±0,02 <sup>a,b,c</sup>	0,89±0,05 <sup>a</sup>	0,62±0,03 <sup>a,b,c</sup>

Примітка. а, в, с – зміни достовірні, порівняно відповідно з контролем, введенням  $\alpha$ -токоферолу і хлориду кобальту ( $p \leq 0,05$ ).

введення  $\alpha$ -токоферолу може вказувати на активацію ліполізу.

Через 26 год після введення  $\alpha$ -токоферолу зафіксовано підвищення рівнів СМ (від  $0,85 \pm 0,02$ ) до  $(1,11 \pm 0,03)$  мг/г тканини), ЛФЛ (від  $0,49 \pm 0,02$ ) до  $(0,64 \pm 0,01)$  мг/г тканини). Це може свідчити про активацію ліпопротеїнази, з дією якої пов'язують зникнення частини ФЛ із поверхні ЛДНГ, і збільшенням вмісту СМ та ЛФХ у складі цієї фракції ЛП [16].

Введення самого  $\alpha$ -токоферолу і наступне введення хлориду кобальту призводить через 26 год до збільшення концентрації ЛФЛ. Сумісне введення  $\alpha$ -токоферолу і солі кобальту через 2 год викликає підвищення концентрації загальних ЛП у сироватці крові (табл. 1) за рахунок фракцій  $\alpha$ - і пре- $\beta$ -ЛП; вміст  $\beta$ -ЛП у цей час нижчий від контролю. Збільшення концентрації загальних ЛП сироватки крові призводить до підвищення рівня ЗЛ у стінці судини при сумісному введенні  $\alpha$ -токоферолу і хлориду кобальту через 2 год, порівняно як з контролем, так і з  $\alpha$ -токоферолом (табл. 4). Через 24 год після сумісного впливу в сироватці крові вміст всіх досліджуваних ЛП-фракцій, крім ХМ сироватки крові, підвищується, що, у зв'язку з раніше показаним нами підвищенням рівня ЛП у цитозолі печінки [21], може свідчити про активацію синтезу всіх досліджуваних класів ЛП у печінці. Основним

місцем синтезу ХМ є стінка кишечника. Виявлене зниження рівнів ізольованих подвійних зв'язків і  $\alpha$ -токоферолу, підвищення вмісту дієнових кон'югатів, кетодієнів і сполучених триєнів, а також гідропероксидів у  $\alpha$ -ЛП, уже до 2 год сумісної дії (табл. 2) вказує на індукцію процесів пероксидації ліпідів. У стінці аорти ми зафіксували зниження рівня ВЖК, порівняно з контролем і введенням як  $\alpha$ -токоферолу, так і хлориду кобальту (табл. 4). Це відбувається внаслідок активації ліпопротеїнази, на що вказує й підвищення рівня ДГ.

Підвищення рівня пре- $\beta$ -ЛП фракції через 2 год після сумісного введення  $\alpha$ -токоферолу й солі кобальту призводить до значного збільшення вмісту ліпідів в аорті (табл. 4), особливо ТГ. У даному випадку активуються як процеси, що призводять до перерозподілу ЛП на користь фракцій, які містять ТГ (у 2 рази вище контролю), так і можлива характерна для стресу мобілізація ліпідів із жирових депо. Тварини, яким вводили хлорид кобальту після ін'єкції  $\alpha$ -токоферолу через 24 год мають підвищені рівні пре- $\beta$ -ЛП сироватки крові (табл. 1), а також ТГ у судинній стінці (у 1,5 раза). Сумісне введення  $\alpha$ -токоферолу й хлориду кобальту через 2 год викликає збільшення рівня ВХ і його ефірів, порівняно з контролем. Це можна пояснити активним поглинанням пероксидно-модифікованих  $\beta$ -ЛП скевенджер-

Таблиця 6 – Вплив  $\alpha$ -токоферолу на показники перекисного окислення ліпідів  $\alpha$ -ліпопротеїнів сироватки крові щурів ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Показники ПОЛ	Контроль	ТФ, 4 год	ТФ, 26 год
Ізольовані подвійні зв'язки, $\Delta E$ /мл	5,69±0,37	4,13±0,21 <sup>a</sup>	5,85±0,47
Дієнові кон'югати, нмоль/мл	14,19±0,86	17,91±0,67 <sup>a</sup>	12,11±0,91
Кетодієни й сполучені триєни, $\Delta E$ /мл	0,93±0,08	1,46±0,09 <sup>a</sup>	0,87±0,07
Загальні гідроперекиси, нмоль/мл	50,03±1,14	162,16±2,17 <sup>a</sup>	44,14±1,99
$\alpha$ -Токоферол, нмоль/мл	9,98±0,74	15,29±0,44 <sup>a</sup>	16,01±0,55 <sup>a</sup>

Примітка. а – достовірні зміни, порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ).



Таблиця 7 – Вплив  $\alpha$ -токоферолу на показники перекисного окислення ліпідів у сумарній фракції  $\beta$ - та пре- $\beta$ -ліпопротеїнів сироватки крові щурів (мг/мл) ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Показники ПОЛ	Контроль	Тф, 4 год	Тф, 26 год
Ізольовані подвійні зв'язки, $\Delta E$ /мл	$4,29 \pm 0,41$	$0,99 \pm 0,07^a$	$3,87 \pm 0,29$
Дієнові кон'югати, нмоль/мл	$15,76 \pm 0,93$	$75,15 \pm 1,13^a$	$17,26 \pm 0,78$
Кетодієни й сполучені триєни, $\Delta E$ /мл	$1,92 \pm 0,16$	$3,46 \pm 0,21^a$	$2,12 \pm 0,19^a$
Загальні гідроперекиси, нмоль/мл	$73,15 \pm 2,47$	$121,14 \pm 5,16^a$	$106,01 \pm 2,89^a$
$\alpha$ -Токоферол, нмоль/мл	$3,62 \pm 0,35$	$5,25 \pm 0,39^a$	$4,49 \pm 0,38$

Примітка. а – достовірні зміни, порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

рецепторами макрофагів і нормальних  $\beta$ -ЛП – рецепторами клітин тканин, що підтверджується достовірним зниженням вмісту цієї фракції в сироватці крові, порівняно з контролем.

Нами показано, що сумісне введення  $\alpha$ -токоферолу й хлориду кобальту стимулює збільшення вмісту ЛФЛ як через 2, так і через 24 год (табл. 5), при цьому концентрація ЗФЛ стінки аорти не відрізняється від норми, що, як видно, пов'язано з активацією окислення ЖК ФЛ, які утворюють поверхню ЛП-частки сироватки крові. Крім того, через 24 год сумісної дії ми спостерігали достовірне зниження вмісту ФХ, порівняно з контролем, що, з урахуванням відзначеного підвищення рівня ЛФЛ, вказує на активацію окисних реакцій.

Відзначено, що при сумісному впливі вміст СМ через 2 год підвищується. Можливо, це свідчить про активацію окисних процесів, які супроводжуються збільшенням вмісту фракцій ФЛ, що слабо окислюються [6].

Ми спостерігали зниження вмісту ФЕ під дією  $\alpha$ -токоферолу і хлориду кобальту через 4 і 24 год (табл. 5). Відзначено також значне

зниження вмісту ФЕ при сумісному введенні препаратів через 2 і 24 год. Через 24 год після сумісного впливу виявлено зниження вмісту ФС+ФІ.

**ВИСНОВОК.** У результаті аналізу наведених даних і зіставлення їх із даними літератури можна зробити висновок, що окисда- тивний стрес, який розвивається внаслідок введення сублетальних доз хлориду кобальту, має атерогенний характер, що проявляється збільшенням рівня загальних ліпопротеїнів із підвищенням вмісту атерогенних ЛП-фракцій. Крім того, активація процесів ПОЛ призводить до розвитку ліпідозу аорти щурів. Введення високих доз  $\alpha$ -токоферолу загалом виконує захисну функцію, хоча дещо активує процеси вільнорадикального окислення, що призводять до росту продуктів ПОЛ у всіх ЛП-фракціях, особливо в атерогенних. Останні поглинаються скевенджер-рецепторами макрофагів, спричиняючи зміни ліпідного спектра аорти, що вказує на важливість ретельного підходу до терапії антиоксидантами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Биохимическая фотометрия. – М.: Изд-во АН СССР, 1957. – 836 с.
2. Барабой В.А., Суткавой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 408 с.
3. Биологические мембраны: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Б. Финдлея, У.Г. Эванза. – М.: Мир, 1990. – 424 с.
4. Божко Г.Х., Кулабухов В.М., Волошин П.В. Динамика распределения липопротеинов при ранней гиперхолестеринемии характеризует активирование транспорта холестерина // Биохим. – 1991. – 56, № 10. – С. 1886-1893.
5. Бочков В.Н., Кузьменко Е.С., Резинк Т., Ткачук В.А. Гормоноподобное действие липопротеидов плазмы крови на тромбоциты и гладкомышечные клетки сосудов человека // Биохим. – 1994. – 59, № 7. – С. 958-966.
6. Бурлакова Е.Б. Роль липидов в процессе передачи информации в клетке // В кн.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. – М.: Наука, 1981. – С. 23-34.
7. Войнар А.Д. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. – М.: Советская наука, 1953. – 496 с.



8. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // *Вопр. мед. хим.* – 1989. – **35**, № 6. – С. 127-131.
9. Грибанов Г.А., Сергеев С.А. Экспресс-микрoанализ общих липидов сыворотки крови и их фракций // *Вопр. мед. химии.* – 1975. – **21**, № 6. – С. 652-655.
10. Загайко А.Л. Атерогенный характер окислительного стресса, вызванного введением хлорида кобальта // *Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: Труды научной конференции, посвященной 100-летию кафедры биохимии СПбГМУ.* – СПб., 1998. – С. 282-286.
11. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Окислительная модификация липопротеинов низкой плотности // *Усп. совр. биол.* – 1990. – **116**, № 6. – С. 729-747.
12. Калиман П.А., Беловецкая И.В. Влияние хлорида кобальта на активность ключевых ферментов метаболизма гема в печени крыс // *Биохим.* – 1986. – **51**, № 8. – С.1302-1307.
13. Калиман П.А., Загайко А.Л., Шаламов Р.В. и др. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта // *Укр. биохим. журн.* – 1997. – **69**, № 5-6. – С. 138-148.
14. Калиман П.А., Шаламов Р.В., Загайко А.Л. Влияние хлорида кобальта на содержание липидов и липопротеинов в печени и сыворотке крови крыс // *Биохим.* – 1997. – **62**, № 7. – С. 850-857.
15. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липопротеиды, дислипидемии и атеросклероз. – Л.: Медицина, 1984. – 166 с.
16. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – СПб.: Питер Ком, 1999. – 512 с.
17. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – С. 241-242.
18. Панин Л.Е., Усынин И.Ф., Трубицына О.М. и др. Роль гепатоцитов, купферовских и эндотелиальных клеток в обмене липопротеидов крови // *Биохим.* – 1994. – **59**, № 3. – С. 353-358.
19. Саприн А.Н., Калинина Е.В. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развития патологических процессов // *Усп. биол. хим.* – 1999. – **39**. – С. 289-326.
20. Стальная И.Д. В кн.: *Современные методы в биохимии* / Под ред. В.Н. Ореховича – М.: Медицина, 1977. – С. 63-66.
21. Шаламов Р.В., Загайко А.Л. Изменения липидного обмена при окислительном стрессе, вызванном хлоридом кобальта // *Укр. биохим. журн.* – 1998. – **70**, № 4. – С. 68-79.
22. Bligh E.G., and Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Canad. J. Biochem. Physiol.* – 1956. – **37**, № 8. – P. 911-917.
23. Liesuy S.F., Tomaro M.L. Heme oxygenase and oxidative stress. Evidence of involvement of bilirubin as physiological protector against oxidative damage // *Biochim. et Biophys. Acta.* – 1994. – **1223**, № 1. – P. 9-14.
24. Maines M.D. Studies on the mechanism of induction of haemoxygenase by cobalt and other metal ions // *Biochem. J.* – 1976. – **154**, № 1. – P.125-131.
25. Steinberg D. Studies on the metabolism of action of probucol // *Am. J. Cardiol.* – 1986. – **57**, № 16. – P. 16-21.
26. Steinberg D. Low density lipoproteins oxidation and its pathobiological significance // *Journ. Biol. Chem.* – 1997. – **272**, № 34. – P. 20963-20966.
27. Sandermann H., McIntyre J.O., Fleischer S. Site-Site Interaction in the phospholipid activation of D-b-hydroxybutyrate dehydrogenase // *Journ. Biol. Chem.* – 1986. – **272**, № 14. – P. 6201-6208.
28. Sundhu R. Serum phospholipids without acid dejection // *Clin. Chem.* – 1976. – **2**, № 12. – P. 1973-1975.
29. Tixer M., Claude J. Une Technique simple et rapide de dosage des triglycerides // *Ann. Biol. Clin. Ales.* – 1974. – **32**, № 1. – P. 53-57.

## ПЕРОКСИДНЫЕ МОДИФИКАЦИИ ЛИПОПРОТЕИНОВ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ АТЕРОГЕНЕЗА У КРЫС ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ ВВЕДЕНИЕМ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА

П.А. Калиман<sup>1</sup>, С.В. Оксененко<sup>2</sup>, А.Л. Загайко<sup>1</sup>  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА<sup>1</sup>  
НИИ ТЕРАПИИ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ<sup>2</sup>

### Резюме

Изучено влияние хлорида кобальта и  $\alpha$ -токоферола на процессы перекисидации липидов и некоторые показатели атерогенеза у крыс. Активацию свободнорадикального окисления определяли по динамике накопления продуктов перекисидации липидов и по уровню  $\alpha$ -токоферола в составе липопротеинов сыворотки крови. Исследовали такие атерогенные показатели, как спектр липопротеинов и состав липидов стенки аорты.



После введения животным хлорида кобальта в дозах, вызывающих развитие оксидативного стресса, увеличивается уровень общих липопротеинов крови с повышением содержания атерогенных липопротеиновых фракций, повышается уровень пероксидно-модифицированных фракций, особенно  $\beta$ - и пре- $\beta$ -ЛП, а также концентрация общих липидов в стенке аорты, особенно триглицеридов, свободного и этерифицированного холестерина.

Предварительное введение  $\alpha$ -токоферола, в целом обладает защитным действием, хотя несколько активизирует процессы перекисления липидов в липопротеинах и может приводить к изменению липидного состава стенки аорты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липопротеины, липиды стенки аорты, оксидативный стресс, хлорид кобальта,  $\alpha$ -токоферол.

## RAT LIPOPROTEIN PEROXIDATIVE MODIFICATIONS AND SOME INDICES OF ATHEROGENESIS AT OXIDATIVE STRESS CAUSED BY ADMINISTRATION OF COBALT CHLORIDE

P.A. Kaliman<sup>1</sup>, S.V. Oksenenko<sup>2</sup>, A.L. Zagayko<sup>1</sup>  
KHARKOV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N.KARAZIN<sup>1</sup>  
INSTITUTE OF THERAPY OF MEDICAL SCIENCE ACADEMY, KHARKOV<sup>2</sup>

### Summary

Cobalt chloride and  $\alpha$ -tocopherol influence on indices of lipid peroxidation and some indices of rat atherogenesis was studied. The activation of free-radical oxidation was determined by dynamics of lipid peroxidation products accumulation and by the level of  $\alpha$ -tocopherol in lipoproteins composition of blood Serum. Such atherogenous indices as lipoproteins spectrum, and composition of aorta wall lipids composition were investigated.

The obtained results testify that after introduction to animal of cobalt chloride in doses causing oxidative stress development the level of common blood lipoproteins directly depends on contents of atherogenous lipoprotein fractions, the level peroxidation – modified fractions are raised, especially due to  $\beta$ - and pre- $\beta$ -lipoproteins. Besides the concentration of common lipids in aorta wall is increased, especial because of triglycerides, free and cholesterol ester.

The preliminary introduction of  $\alpha$ -tocopherol as a whole has a protective function, though it activates lipid peroxidation processes in lipoproteins to a small extent and can cause changes of lipid structure of aorta wall.

KEY WORDS: lipoproteins, lipid of aorta wall, oxidative stress, cobalt chloride,  $\alpha$ -tocopherol.

Отримано 10.05.2000 р.

---

### ВИДАВНИЦТВО "УКРМЕДКНИГА"

доводить до Вашого відома індекси передплатних журнальних видань:

"Шпитальна хірургія" – 22810;

"Вісник наукових досліджень" – 22866;

"Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України" – 22867;

"Інфекційні хвороби" – 22868;

"Медична хімія" – 22869.

Наша адреса:

майдан Волі, 1; м. Тернопіль, 46001

тел.: (0352) 22-97-29



## ПОРІВНЯЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ МАГНІТОЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ У РІЗНИХ ДОЗАХ В УМОВАХ КОРЕКЦІЇ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

А.А. Гудима, О.М. Гусак

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Досліджували коригувальний вплив низькоенергетичного лазерного випромінювання у поєднанні з постійним магнітним полем на перебіг гострого токсичного ураження тетрахлорметаном з використанням різних ділянок опромінення і різних енергетичних доз фотовпливу. Показано, що найвищий гепатопротекторний ефект проявляє магнітолазерне опромінення крові у дозі, на 50 % вищій від біостимулювальної. Застосування дози, рівної 50 % від біостимулювальної, при фотовпливах на печінку і кров, окремо та в поєднанні, сприяє погіршенню перебігу досліджуваної патології.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** низькоенергетичне магнітолазерне випромінювання, гостре токсичне ураження тетрахлорметаном.

**ВСТУП.** Протягом останніх років, поряд із вдосконаленням фармакотерапії гострих запальних захворювань печінки і розробкою нових гепатопротекторів, активно ведеться пошук нетрадиційних засобів лікування. Перспективним серед них є низькоенергетичне лазерне випромінювання червоного і ближнього інфрачервоного діапазонів.

Позитивні результати виявлено при корекції лазерним випромінюванням гострого і хронічного ураження печінки тетрахлорметаном [1, 2, 4, 5], а також в клінічних умовах [9, 11]. Разом із тим, використання лазера в умовах розпалу патології печінки все ще залишається дискусійним питанням. Показаннями лазеротерапії найчастіше є хронічні хвороби [13]. Суперечливість наявних даних літератури спонукала дослідити коригувальний вплив низькоенергетичного лазерного випромінювання у поєднанні з постійним магнітним полем з використанням різних ділянок опромінення і різних енергетичних доз фотовпливу, що стало метою даної роботи.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для реалізації поставленої мети було проведено три серії експериментів на 89 нелінійних білих щурах-самцях масою 170-180 г. Гостре токсичне ураження тетрахлорметаном моделювали шляхом внутрішньошлункового введення 50 % розчину токсиканту на оливковій олії в дозі 0,15 мл чистої речовини на 100 г маси тварини [10]. Фотовплив здійснювали на печінку і кров окремо та в поєднанні протягом 2-х сеансів.

© А.А. Гудима – к.м.н., О.М. Гусак – к.м.н., 2000.

Перший виконували через 2 год після введення токсину, другий – через 24 год.

У першій серії експериментів використали курсові дози лазерного випромінювання, які в наших попередніх дослідженнях супроводжувалися вираженим біостимулювальним впливом на гепатоцити: 42,8 Дж · см<sup>-2</sup> при опроміненні печінки, 85,6 Дж · см<sup>-2</sup> – крові, 64,2 Дж · см<sup>-2</sup> – печінки і крові разом (БСД100) [8]. У другій серії доза опромінення була на 50 % нижчою (БСД50), у 3-й – на 50 % вищою (БСД150) від біостимулювальної. Опромінення здійснювали напівпровідниковим лазерним генератором безперервної дії "Луч-2" (довжина хвилі – 0,82 мкм, потужність на виході світловода – 0,035 Вт) з магнітною насадкою на кінці світловода типу "МН-1" (величина магнітної індукції – 30-35 мТл) – для посилення ефективності лазерного випромінювання.

Через 24 год після останнього сеансу опромінення під тіопентало-натрієвим наркозом (75 мг на кілограм маси) проводили вивчення жовчовиділення [14]. В отриманій протягом 2-х годин порції жовчі визначали вміст білірубину і його фракцій [15], холестерину і загальних жовчних кислот [12]. За отриманими даними розраховували ступінь кон'югації білірубину і холато-холестериновий коефіцієнт.

Усі маніпуляції з тваринами проводили в умовах ефірного наркозу. З експерименту щурів виводили шляхом швидкої декапітації. Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.



**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** З рис. 1 видно, що застосування БСД<sub>50</sub> сприяло зниженню швидкості жовчовиділення при всіх досліджуваних впливах на 23,5-34,6 %. Слід відзначити, що результат в умовах опромінення печінки і крові разом був статистично достовірним ( $p < 0,05$ ). Магнітолазерне випромінювання з БСД<sub>100</sub> не викликало суттєвих відхилень цього показника при всіх способах фотовпливу, порівняно з неопроміненими тваринами. Разом із тим, використання БСД<sub>150</sub> супроводжувалося істотним підвищенням швидкості жовчовиділення при опроміненні крові (на 73,5 %,  $p < 0,01$ ). Відзначали тенденцію до збільшення цього показника при окремому фотовпливі на печінку. Опромінення печінки і крові разом було неефективним.

Застосування магнітолазерного випромінювання з БСД<sub>50</sub> в умовах окремих фотовпливів на печінку і кров не викликало істотних змін швидкості виділення загального білірубину, порівняно з неопроміненими тваринами. При поєднаному опроміненні величина даного показника зростала на 59,9 % ( $p < 0,05$ ). Випромінювання з БСД<sub>100</sub> сприяло зростанню досліджуваного показника тільки при магнітолазерному опроміненні печінки (на 60,3 %,  $p < 0,01$ ). Інші способи фотовпливу не супроводжувалися достовірними його змінами. При застосуванні БСД<sub>150</sub> спостерігали суттєве підвищення швидкості виділення загального білірубину (на 57,6-170,1 %,  $p < 0,05-0,001$ ) при всіх способах опромінення. Слід відзначити, що в умовах опромінення крові даний показник був найбільшим.

Випромінювання з БСД<sub>50</sub> викликало достовірне зниження швидкості виділення прямого білірубину при окремих фотовпливах на печінку і кров, порівняно з неопроміненими тваринами (відповідно на 37,2 %,  $p < 0,05$  і на 62,8 %,  $p < 0,001$ ). Поєднана дія на печінку і кров не супроводжувалася істотними змінами цього показника. Магнітолазерний вплив з БСД<sub>100</sub> посилював виділення прямого білірубину в умовах окремого опромінення печінки і крові (відповідно на 106,0 % і 156,0 %,  $p < 0,05$ ). Поєднаний магнітолазерний вплив у цій дозі був малоефективним. БСД<sub>150</sub> сприяла зростанню досліджуваного показника при всіх способах фотовпливу. Найвищий його рівень, як і загального білірубину, виявлено при магнітолазерному опроміненні крові.

Магнітолазерне випромінювання з БСД<sub>50</sub> супроводжувалося підвищенням виділення непрямого білірубину тільки в умовах поєднаного фотовпливу на печінку і кров (на

106,3 %,  $p < 0,01$ ). Застосування досліджуваних фізичних чинників з БСД<sub>100</sub> викликало статистично достовірне збільшення швидкості виділення непрямого білірубину при опроміненні печінки (на 81,5 %,  $p < 0,01$ ), її зменшення при фотовпливі на кров (на 46,3 %,  $p < 0,05$ ) і практично не змінювало рівень цього показника при поєднаному опроміненні. БСД<sub>150</sub> не впливала на рівень досліджуваного показника при опроміненні печінки і суттєво його підвищувала при фотовпливах на саму кров і на печінку та кров разом (відповідно на 147,8 %,  $p < 0,01$  і на 42,4 %,  $p < 0,05$ ).

Ступінь кон'югації білірубину (рис. 2) при застосуванні БСД<sub>50</sub>, порівняно з неопроміненими тваринами, статистично достовірно знижувався незалежно від способу магнітолазерного випромінювання. БСД<sub>100</sub> сприяла зростанню величини досліджуваного показника з максимумом при опроміненні крові (на 52,9 %,  $p < 0,001$ ). БСД<sub>150</sub> інтенсифікувала кон'югаційну здатність гепатоцитів тільки при фотовпливі на печінку (на 49,8 %,  $p < 0,01$ ).

Лазерний вплив з БСД<sub>50</sub>, порівняно з неопроміненими тваринами, викликав тенденцію до зниження швидкості виділення холестерину при всіх способах опромінення. За умов фотовпливу на кров отриманий результат був статистично достовірним (на 42,2 %,  $p < 0,05$ ). Опромінення з БСД<sub>100</sub>, навпаки, викликало посилення виділення цієї речовини. Дія на печінку була найбільш ефективною. Досліджуваний показник зростав на 135,3 % ( $p < 0,01$ ).

Опромінення з БСД<sub>50</sub> супроводжувалося тенденцією до зниження швидкості виділення жовчних кислот. В умовах фотовпливу на кров отриманий результат був статистично достовірним (на 37,5 %,  $p < 0,01$ ). Застосування біостимуляційної дози не викликало суттєвих відхилень цього показника. Фотовплив у дозі, на 50 % більшій від біостимуляційної, супроводжувався посиленням виділення жовчних кислот тільки при магнітолазерному впливі на кров (на 52,4 %,  $p < 0,01$ ).

У свою чергу, холато-холестеринове співвідношення при БСД<sub>50</sub>, порівняно з групою неопромінених щурів, практично не змінювалося. Вплив БСД<sub>100</sub> викликав його зниження, яке при опроміненні окремо печінки і крові було статистично достовірним (відповідно на 70,6 % і 57,1 %,  $p < 0,05$ ). В умовах зростання дози до БСД<sub>150</sub> досліджуваний показник практично не відрізнявся від рівня неопромінених тварин.

Результати свідчать про те, що застосування магнітолазерного випромінювання з БСД<sub>50</sub> в умовах корекції гострого токсичного



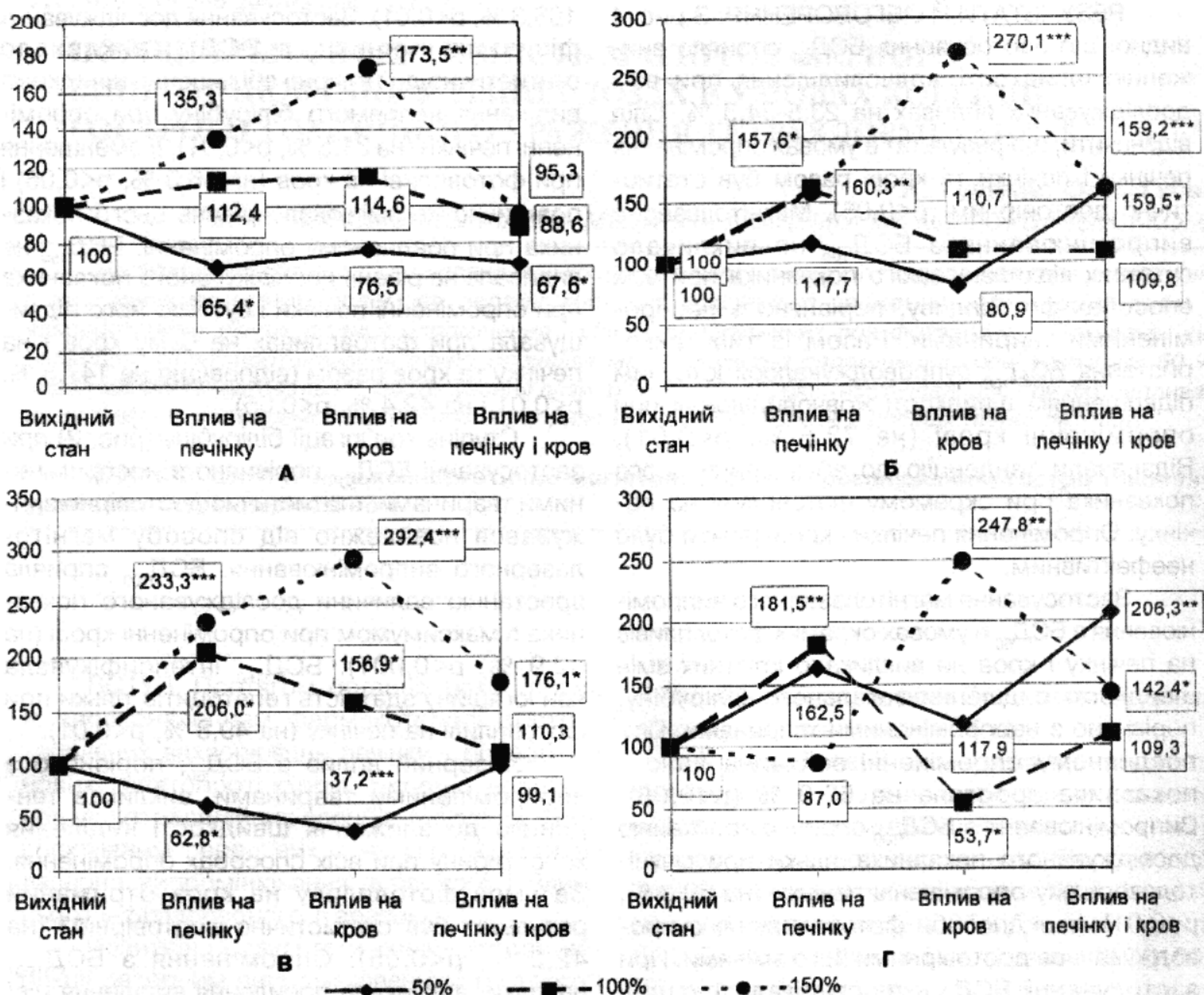


Рис. 1. Швидкість жовчовиділення (А), швидкість екскреції загального (Б), прямого (В) і непрямого (Г) білірубину (у відсотках від рівня неопромінених тварин) в умовах корекції гострого ураження тетрахлорметаном магнітолазерним випромінюванням у різних дозах (тут і на рис. 2: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ).

ураження печінки тетрахлорметаном при всіх досліджуваних способах магнітолазерного опромінення сприяло погіршенню показників жовчовиділення, порівняно з неопроміненими тваринами. Найвищий ефект спостерігали при застосуванні БСД<sub>150</sub>. У цих експериментальних умовах наставало покращання більшості показників жовчовидільної функції печінки, яке було найістотнішим при фотовпливі на кров. Проте за ступенем кон'югації білірубину в цих експериментальних умовах вищий результат спостерігали при опроміненні печінки.

Таким чином, магнітолазерний вплив можна використовувати з терапевтичною метою і на фоні найбільших проявів гострого токсичного ураження тетрахлорметаном. Ефективність дози, вищої від біостимулювальної, ймовірно, зумовлена потребою більшого енергетичного насичення, здатного стимулювати функціональні резерви гепатоцитів в умовах розвитку патологічного процесу. Насамперед це стосується активації речовин з антиоксидною дією, що, власне, і є

найхарактернішим при опроміненні крові [3]. Нижчий ефект фотовпливу на печінку та на печінку і кров разом, ймовірно, зумовлений більш вираженою стимуляцією в цих умовах мікросом гепатоцитів, яка при недостатньому антиоксидному захисті посилює токсичність тетрахлорметану [7]. Цей факт підтверджує інтенсифікація кон'югації білірубину, яку відзначали при опроміненні печінки. Крім цього, дія на кров, як свідчать дані літератури, супроводжується найвищою генералізацією первинного фотоефекту із залученням багатьох механізмів саногенезу [6], що, можливо, і лягло в основу виявленого гепатопротекторного ефекту.

Разом із тим, отримані результати наводять на думку про те, що ефективність магнітолазерного випромінювання на фоні максимальних проявів інтоксикації, ймовірно, буде відзначатися тільки за умов збереження достатніх функціональних резервів гепатоцитів. Насамперед це стосується відсутності дефіциту антиоксидантів.



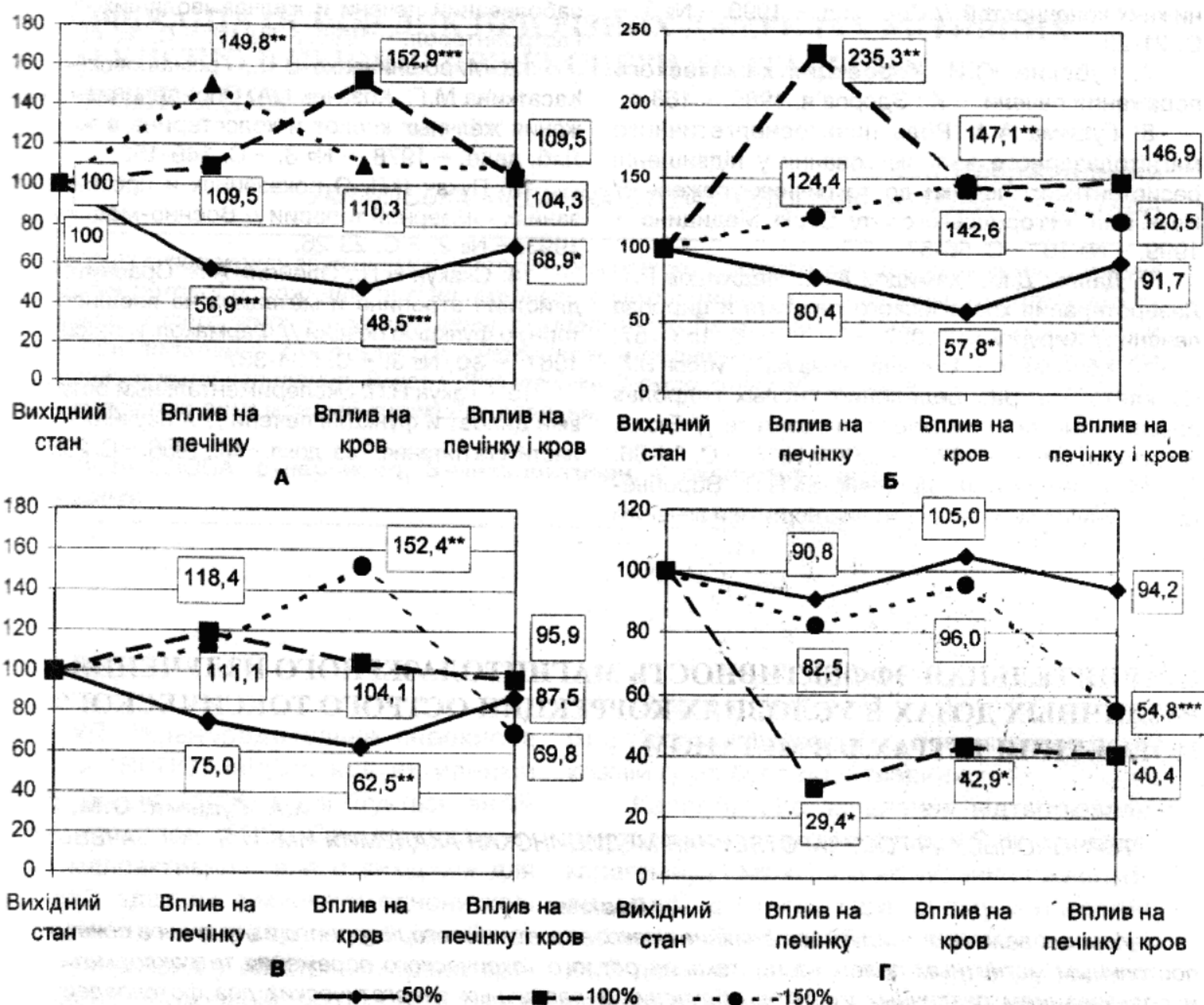


Рис. 2. Ступінь кон'югації білірубіну (А), швидкість ескреції холестерину (Б), жовчних кислот (В) і холато-холестеринний коефіцієнт (Г) (у відсотках від рівня неопромінених тварин) в умовах корекції гострого ураження тетрахлорметаном магнітолазерним випромінюванням у різних дозах.

**ВИСНОВКИ.** 1. В умовах корекції гострого токсичного ураження тетрахлорметаном найвищий гепатопротекторний ефект настає після магнітолазерного опромінення крові у дозі, на 50 % вищій від біостимулювальної.

2. Застосування дози, на 50 % нижчої від біостимулювальної, при фотовпливах на печінку і кров окремо та в поєднанні сприяє погіршенню перебігу гострого токсичного ураження тетрахлорметаном.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Харлампович С.И., Полонский А.К., Маша-нова Д.Д., Древаль А.А. Антитоксическое действие лазерного излучения на поврежденные СС1 гепатоциты // Фармакол. и токсикол. – 1984. – XLVII, № 2. – С. 49-52.
2. Байбеков И.М., Ворожейкин В.М., Артыков Ш.Н. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения инфракрасного диапазона на ультраструктуру и пролиферацию клеток печени при экспериментальном гепатите и циррозе // Бюлл. эксперим. биол. – 1992. – 113, № 4. – С. 424-427.
3. Байбеков И.М., Мусаев Э.Ш. Ультраструктура и пролиферация клеток слизистой желудка при

воздействию лазером // Цитологические механизмы гистогенезов. – Ташкент, 1983. – С. 16-18.

4. Баракаев С.Б., Мироджов Г.К., Мишанина З.Г. Морфологическая оценка превентивного и лечебного действия низкоинтенсивного лазерного излучения на течение острого токсического гепатита // Арх. патол. – 1989. – 51, № 12. – С. 28-32.
5. Суворов И.М., Добрынина В.В., Ушкова И.Н. и др. Влияние излучения лазеров на организм человека // Лік. справа. – 1981. – № 9. – С. 10-15.

6. Швальб П.Г., Захарченко А.Я., Сигаев А.А., Катаев М.И. Внутривенное лазерное облучение крови при облитерирующих заболеваниях сосудов



нижних конечностей // Сов. мед. – 1990. – № 3. – С. 21-23.

7. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.

8. Гудима А.А. Роль низкоэнергетического магнитолазерного випромінювання у підвищенні резистентності печінки до токсичних уражень // Наук. вісн. Ужгородського у-ту. Серія: Медицина. – 1999. – № 10. – С. 56-57.

9. Далгат Д.М., Хамидов А.И., Меджидов Р.Т. Лазеротерапия хронического гепатита и цирроза печени // Хирургия. – 1987. – № 11. – С. 153-157.

10. Короленко Т.А., Кондрикова А.Е., Титова В.Г. Субклеточное распределение кислых гидролаз печени крыс при токсическом гепатите // Бюлл. эксперим. биол. – 1975. – LXXX, № 7. – С. 34-36.

11. Крекнин А.Ф., Ярошевская Н.П., Воробьева Е.Г. Анализ литературы по диагностике и лечению

заболеваний печени и желчевыводящих путей // Гастроэнтерол. – 1985. – № 17. – С. 46-48.

12. Мирошниченко В.П., Громашевская Л.П., Касаткина М.Г., Козачёк Г.А. Определение содержания желчных кислот и холестерина в желчи // Лаб. дело. – 1978. – № 3. – С. 149-153.

13. Пукач Л.П. О показаниях и противопоказаниях к лазерной терапии // Военно-мед. журн. – 1993. – № 2. – С. 23-26.

14. Скакун Н.П., Олейник А.Н. Сравнительное действие атропина и метацина на внешнесекреторную функцию печени // Фармакол. и токсикол. – 1967. – 30, № 3. – С. 334-337.

15. Скакун Н.П. Экспериментальный островковый диабет и функция печени // X научная сессия института питания: Тез. докл. – М., 1956. – С. 238-241.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МАГНИТОЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ ДОЗАХ В УСЛОВИЯХ КОРРЕКЦИИ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

А.А. Гудыма, О.М. Гусак

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

Исследовали коррегирующее влияние низкоэнергетического лазерного излучения в сочетании с постоянным магнитным полем на протекание острого токсического поражения тетрахлорметаном с использованием различных участков облучения и различных энергетических доз фотовоздействия. Показано, что наибольший гепатопротекторный эффект имеет магнитолазерное облучение крови в дозе, на 50 % превышающей биостимулирующую. Применение дозы, составляющей 50 % от биостимулирующей, при фотовоздействиях на печень и кровь, отдельно и в сочетании, способствует ухудшению протекания исследуемой патологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: низкоэнергетическое магнитолазерное излучение, острое токсическое поражение тетрахлорметаном.

## COMPARATIVE EFFECTIVENESS OF DIFFERENT-DOSED MAGNETOLASER IRRADIATION UNDER CONDITION OF CORRECTION OF ACUTE TOXIC DAMAGE BY TETRACHLOROMETHANE

A.A. Hudyma, O.M. Husak

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

Corrective effect of low-energy laser irradiation combined with constant magnetic field on course of acute toxic damage by tetrachloromethane with application of various irradiation areas and various energetic doses of photoinfluence has been investigated. Magnetolaser blood irradiation in twice larger dose than biostimulated one was shown to have the highest hepatoprotective effect. Application of twice smaller dose than biostimulated one at photoinfluence on liver and blood promotes deterioration of observed pathology course.

KEY WORDS: low-energy magnetolaser irradiation, acute toxic damage by tetrachloromethane.

Отримано 12.06.2000 р.



## МОДИФІКАЦІЯ ОСНОВ ДНК ПРИ РІЗНИХ ДЖЕРЕЛАХ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ПЕЧІНЦІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ІНТОКСИКАЦІЯХ

О.І. Цебржинський

УКРАЇНЬСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

*Генерація супероксиду збільшилася в мітохондріях печінки при гострому карагеніновому запаленні слизових тканин ротової порожнини та гіпернікельозі, в мікосоммах – при запаленні, гіпертелурозі та гіпернікельозі, у фагоцитах – при запаленні та гіперталозі. Вміст 5-метилцитозину в ДНК печінки знизився при запаленні, гіпертелурозі, гіперталозі, гіпернікельозі, майже нормалізувався при антиоксидантній корекції запалення. Вміст у ДНК печінки 8-оксигуаніну збільшився при всіх впливах та нормалізувався при антиоксидантній корекції запалення.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** супероксид, 5-метилцитозин, 8-оксигуанін, інтоксикація, запалення, антиоксиданти.

**ВСТУП.** Вільнорадикальне перекисне окислення (ВРПО) ініціюється активними формами кисню (АФК) та лімітується антиоксидантним захистом (АОЗ). Супероксиданіон-радикал малоактивний, але є вихідним для інших АФК, здатних викликати одониткові поривки ДНК, що сприяє транспозиціям. Генерується супероксид у електронно-транспортних ланцюгах мітохондрій, мікосом, а також фагоцитів. По ліпідах мембран можлива передача ліпідних радикалів та перекисів у тіло хроматину; ВРПО цих ліпідів з іонами переходних біометалів впливає на ДНК. Внаслідок цього змінюються експресія генів та рівень синтезу білка. Модифікації основ ДНК пов'язані з метилуванням цитозину в 5-метилцитозин (5mC) та його деметилуванням, збільшенням гуаніну в 8-оксигуанін (8OG).

Відомості про вміст у ДНК печінки 5mC і 8OG та зв'язок їх із джерелами АФК при запаленні та його корекції антиоксидантами, при неорганічних інтоксикаціях практично відсутні. Тому це стало предметом дослідження.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на морських свинках (самці, середня маса – 350-400 г), яких поділили на групи: 1) інтактні, 2) з карагеніновим запаленням м'яких тканин щелепно-лицьової порожнини, 3) з антиоксидантною корекцією запалення, 4) з гіперталозом, 5) з гіпертелурозом,

О.І. Цебржинський, 2000.

6) з гіперванадозом, 7) з гіпернікельозом. У кожній групі було по 4 тварини.

Карагенінове запалення відтворювали одноразовою ін'єкцією 1 мл 0,2 % суспензії карагеніну (1 мг/кг) у м'які тканини щелепно-лицьової ділянки. При цьому запаленні посилення ВРПО найбільш виражене в крові на 3 добу, в печінці – на 14 добу, розвиток набряку максимальний через 3-5 год [4], тому пероральне введення антиоксидантів починали через 3 години після ін'єкції карагеніну раз на добу в дозі: β-каротину – 2 мг/кг маси тіла на добу, α-токоферолу ацетат – 8 мг/кг добу, аскорбінової кислоти – 20 мг/кг добу, селеніту натрію – 10 мкг/кг добу (все у вигляді "Тривіту") та кверцетину – 10 мг/кг добу. Модель запалення та його корекцію розроблено раніше [7]. Корекцію проводили протягом 5 діб, після чого у тварин під гексеналовим наркозом забирали кров із серця. Враховували те, що при запаленні змінюються продукція глюкокортикоїдів та активність фагоцитів.

Для відтворювання гіпермікроелементозів тварини отримували впродовж 10 діб перорально кожного дня водні розчини броміду талію (0,025 ЛД<sub>50</sub>), телуриту натрію, ортованадату натрію, хлориду нікелю (0,1 ЛД<sub>50</sub>). Враховували те, що іон талію блокує калієві канали, телур є аналогом селену, який входить до складу глутатіонпероксидази та деяких білків, що впливають на ДНК, ортованадат – аналог ортофосфату, сприяє



апоптозу та хромосомним абераціям, активації глутатіонредуктази, іон нікелю комплексується з пуринами ДНК, може блокувати кальцієві канали та стимулювати ВРПО у печінці. В усіх випадках спостерігали зміни стану АОЗ і ВРПО тканин печінки різного ступеня (найбільші – при запаленні та гіпернікельозі, найменші – при гіперванадозі та корекції запалення антиоксидантами) та різні типи патологій мітозу [8].

Із тканини печінки виділяли ДНК та визначали в ній після кислотного гідролізу вміст 5mC, застосовуючи оборотно-фазову хроматографію [1, 5]. Вміст 8OG у 25 мкг ДНК визначали за допомогою моноклональних антитіл із подальшим порівнянням зі стандартом (гамма-опромінення сперми лосося) [2, 6]. У печінці визначали джерела супероксиду [3] при стимуляції НАДН, НАДФН, пірогеналом, застосовувавши спектрофотометричний НСТ-тест.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Потенційна продукція супероксиду в печінці щурів при запаленні збільшилася при мітохондріальному і мікросомальному окисленнях та під час дихального вибуху фагоцитів, при гіперталозі зменшилася при мітохондріальному та мікросомальному окисленнях, при гіпертелурозі збільшилася при мітохондріальному окисленні, але зменшилася під час дихального вибуху фагоцитів, при гіперванадозі зменшилася при мітохондріальному та мікросомальному окисленнях, при гіпернікельозі збільшилася при мітохондріальному і мікросомальному окисленнях (табл. 1).

ДНК печінки морських свинок містить 39 % пар гуанін-цитозин. Порівняно з нормою при позапечінковому запаленні в ДНК спостерігається зниження вмісту 5mC на 18,9 %. При корекції антиоксидантами це зниження незначне (на 3 %). Порівняно з нормою, вміст 5mC у ДНК печінки морських свинок не змінився при гіперванадозі, дещо знизився при гіпернікельозі (на 3,2 %), суттєво знизився при гіперталозі (на 10,6 %) та гіпертелурозі (на 9,0 %). Порівняно з нормою, вміст 8OG у ДНК печінки морських свинок при запаленні збільшився на 43 %, а при корекції антиоксидантами – на 16 %. Порівняно з нормою, збільшився вміст 8OG у ДНК печінки морських свинок при гіперталозі – на 86 %, гіпертелурозі – на 114 %, при гіперванадозі – на 157 %, при гіпернікельозі – на 143 % (рис. 1).

Слід зазначити, що при гіперванадозі майже не спостерігається генерація АФК,

проте проявляються різноманітні патології мітозу та окислення гуаніну. Максимальна продукція АФК при запаленні, тут найбільша деметильованість ДНК. За зниженням величин показників складено ряди: генерація супероксиду мітохондріями – запалення > NiCl<sub>2</sub> > норма > Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> > TIBr > Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>; мікросомами – запалення > Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> > NiCl<sub>2</sub> > норма > Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> > TIBr; фагоцитами – запалення > TIBr > Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> > норма > NiCl<sub>2</sub> > Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>; вміст 5mC – норма > Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> > корекція запалення АО > NiCl<sub>2</sub> > Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> > TIBr > запалення; вміст 8OG – Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> > NiCl<sub>2</sub> > Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> > TIBr > запалення > норма > корекція запалення АО. Таким чином, прямого зв'язку між джерелами та рівнем генерації супероксиду і вмістом у ДНК печінки 5mC і 8OG не виявлено.

Можна вважати, що пара гуанін-цитозин уражається при змінах рівнів АФК, ВРПО, АОЗ. Деметильовання 5mC та утворення 8OG у ДНК є наслідком різних впливів. Накопичення технічних помилок викликає порушення структурної, функціональної та метаболічної організації клітини. Антиоксиданти гальмують розвиток змін у структурі ДНК, тобто екологічні впливи на організм трансформуються та акумулюються в генетичні зміни ДНК. Це модифікує життєвий цикл клітин, впливає на довжину та якість онтогенезу, викликає розвиток патологічних станів в онтогенезі й може бути фактором еволюції у філогенезі.

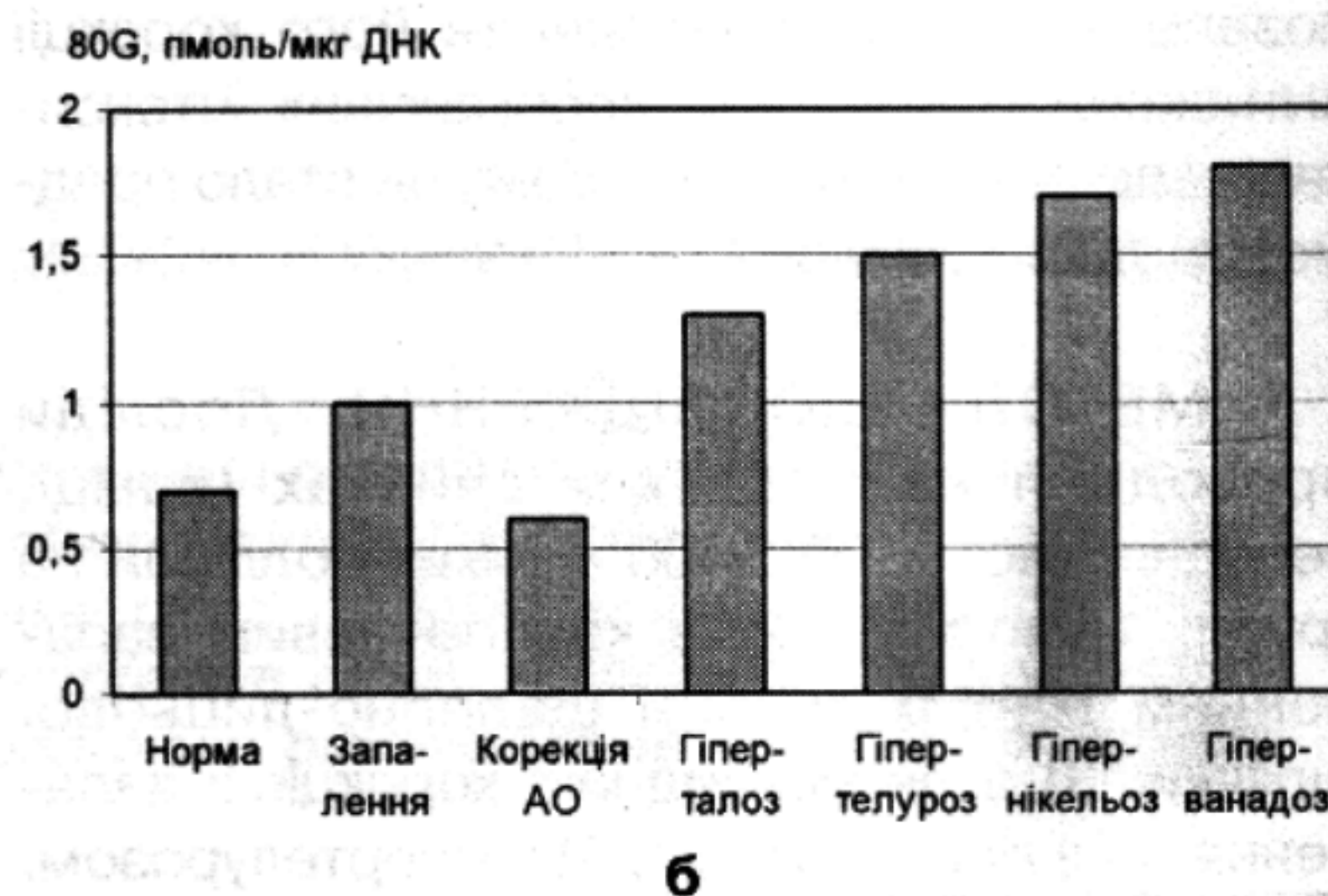
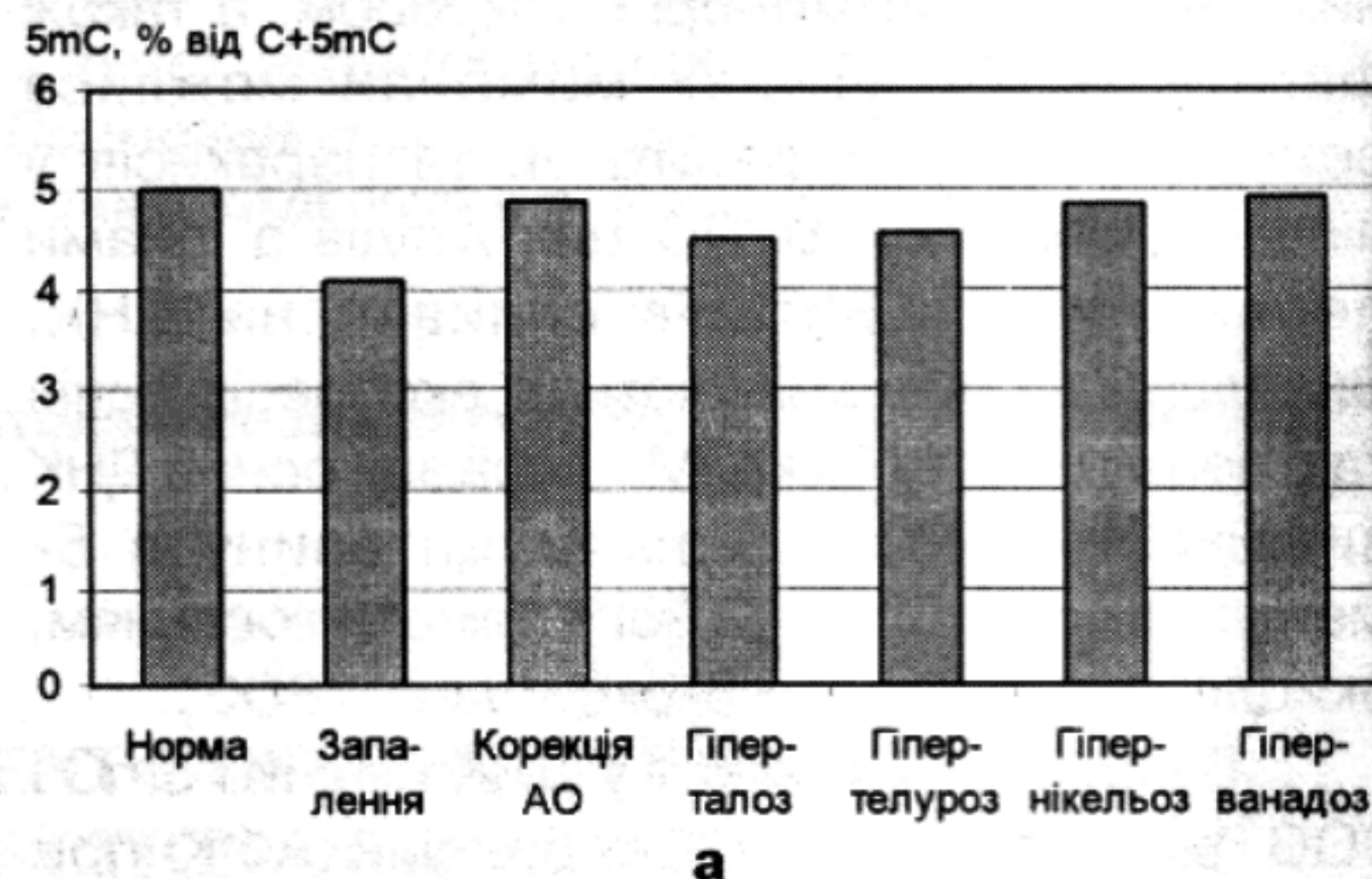


Рис. 1. Вміст у ДНК печінки 5mC (а) та 8OG (б).



Таблиця 1 – Спектрофотометричний НСТ-тест печінки (нмоль супероксиду/г·с)

Серії дослідів	Стимуляція		
	НАДФН	НАДН	Пірогенал
Норма	11,22±0,27	14,47±0,33	0,49±0,03
Запалення	16,67±0,13*	25,00±0,13*	0,94±0,02*
Гіперталоз	6,93±0,40*	10,73±0,40*	0,60±0,06
Гіпертелуроз	13,53±0,93*	13,07±1,60	0,22±0,04*
Гіпернікельоз	12,41±0,40*	18,07±0,80*	0,37±0,04
Гіперванадоз	9,00±0,27*	9,93±0,47*	0,51±0,02

Примітка. \* – зміни достовірні, порівняно з нормою (p<0,05).

**ВИСНОВОК.** Генерація супероксиду в печінці збільшилася в мітохондріях при гострому карагеніновому запаленні м'яких тканин ротової порожнини та гіпернікельозі, в мікосоммах – при запаленні, гіпертелурозі та гіпернікельозі, у фагоцитах – при запаленні та гіперталозі. Вміст 5-метилцитозину в ДНК печінки зменшився при запаленні, гіпертелурозі, гіперталозі, гіпернікельозі, майже нормалізувався при антиоксидній корекції запалення. Вміст у ДНК печінки 8-оксигуаніну збільшився при всіх впливах та нормалізувався при антиоксидній корекції запалення.

*Вдячний за консультації та допомогу при проведенні молекулярно-біологічних досліджень проф. В.І. Брускову, к.х.н. Л.В. Малаховій, к.б.н. Ж.К. Масалімову (НДІ теоретичної та експериментальної біофізики РАН, Пушкіно), к.б.н. С.М. Бубенщиків, к.б.н. О.О. Ломову, проф. Б.Ф. Ванюшину (НДІ фізико-хімічної біології ім. А.Н. Белозерського МДУ ім. М.В. Ломоносова Москва).*

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Антонов А.С., Владыченская Н.С., Петров Н.Б. Выделение ДНК из тканей беспозвоночных животных и высших растений, фиксированных спиртом // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. – 1971. – № 8. – С. 137-142.
2. Брусков В.И., Газиєв А.И., Малахова Л.Б. и др. Моноклональные антитела 8-оксо-2-дезоксигуанозина (8-гидроксигуанозина). Характеристика и использование для определения поврежденных ДНК активными формами кислорода // Биохимия. – 1996. – 61, вып.4. – С. 737-744.
3. Коган А.Х., Грачев С.В., Елисеева С.В., Быевич С.Н. Свойство углекислого газа ингибировать генерацию супероксидного анионрадикала клетками и его биологическое значение // Вопр. мед. химии. – 1997. – № 1. – С. 193-200.
4. Літвіненко Н.В., Павленко Г.П., Саяпіна Л.М., Цебржинський О.І. Стан перекисного окислення в тканинах печінки при непечінкових патологіях //

Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 1998. – 1, № 1. – С. 28-32.

5. Ломов А.А. Организация генома и дивергенция ДНК в классе птиц: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 1984. – 24 с.

6. Малахов Л.В., Усачева А.М., Масалимов Ж.К., и др. Иммуноферментные методы определения 8-оксигуанина в ДНК // III съезд по радиационным исследованиям: Тезисы докладов. – М., 1997. – 2. – С. 20-21.

7. Саяпіна Л.М., Цебржинський О.І., Рыбалов О.В. Возможности коррекции комплексом биоантиоксидантов "Триовит" с кверцетином каррагенинового воспаления тканей, прилежащих к слюнным железам // Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини на сучасному рівні: Мат. доп. наук. конф. – Полтава, 1996. – С. 433.

8. Цебржинський О.І. Генотоксические эффекты неблагоприятных экологических факторов // Вестник проблем биологии и медицины. – 1997. – № 30. – С. 4-19.



# МОДИФИКАЦИЯ ОСНОВАНИЙ ДНК ПРИ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКАХ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИНТОКСИКАЦИЯХ

О.И. Цебржинский

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

## Резюме

Генерация супероксида в печени увеличилась в митохондриях при остром каррагениновом воспалении мягких тканей ротовой полости и гиперникелезе, в микросомах – при воспалении, гипертелурозе и гиперникелезе, в фагоцитах – при воспалении и гиперталлозе.

Содержание 5-метилцитозина в ДНК печени снизилось при воспалении, гипертелурозе, гиперталлозе, гиперникелезе, почти нормализовалось при антиоксидантной коррекции воспаления. Содержание в ДНК печени 8-оксигуанина увеличилось при всех воздействиях и нормализовалось при антиоксидантной коррекции воспаления.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: супероксид, 5-метилцитозин, 8-оксигуанин, интоксикация, воспаление, антиоксиданты.

# MODIFICATION OF THE DNA BASES AT DIFFERENT SOURCES OF ACTIVE OXYGEN FORMS IN THE LIVER AT EXPERIMENTAL INTOXICATION

O.I. Tsebrzhynsky

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

## Summary

Superoxide generation in liver increased in mitochondria at acute carragenin inflammation of the oral cavity soft tissues and in hypernickelosis, in microsomes at inflammations, hypertellurosis and hypernickelosis, in phagocytes at inflammation and hypertallosis. The contents of 5-methylcytosine in liver DNA became lower at inflammation, hypertellurosis, hypertallosis, hypernickelosis, has nearly become normal at antioxidant correction of the inflammation. 8-oxyguanine contents in the liver DNA was increased at all influences and became normal at antioxidant correction of the inflammation.

KEY WORDS: superoxide generation, 8-oxyguanine, 5-methylcytosine, intoxication, inflammation, antioxidants.

Отримано 17.02.2000 р.

---

## ВИДАВНИЦТВО "УКРМЕДКНИГА"

доводить до Вашого відома індекси передплатних журнальних видань:

"Шпитальна хірургія" – 22810;

"Вісник наукових досліджень" – 22866;

"Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України" – 22867;

"Інфекційні хвороби" – 22868;

"Медична хімія" – 22869.

Наша адреса:

майдан Волі, 1; м.Тернопіль, 46001

тел.: (0352) 22-97-29



## ПРОФІЛАКТИКА ПОРУШЕНЬ ОКИСЛЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ЖІНОК ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ КЕСАРЕВОГО РОЗТИНУ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЗИНАЦЕФУ І ФЛУРЕНІЗИДУ

І.В. Корда, Л.М. Маланчук, М.М. Корда

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Показано, що у жінок з факторами ризику виникнення інфекційних ускладнень після операції кесаревого розтину відбувається активація процесів вільнорадикального окислення (ВРО) і пригнічення функціонального стану антиоксидної системи (АОС). Профілактичне застосування зинацефу і флуренізиду частково запобігало порушенню балансу ВРО/АОС у післяопераційному періоді.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кесарів розтин, інфекційні ускладнення, профілактика, флуренізид, зинацеф.

**ВСТУП.** Необхідність пошуку нових препаратів і шляхів їх використання для профілактики гнійно-запальних ускладнень після операції кесаревого розтину зумовлена, з одного боку, збільшенням кількості таких операцій, а з іншого – підвищенням кількості жінок факторами ризику виникнення гнійно-запальних ускладнень. У ряді робіт показано роль активації процесів ліпопероксидації у патогенезі запальних захворювань жіночих статевих органів [2, 4]. Основним методом попередження післяпологових гнійно-запальних захворювань є антибіотикопрофілактика [7]. Раніше нами було виявлено, що новому антикробному засобу флуренізиду притаманні антиоксидні властивості [1]. Метою даної роботи було дослідити можливість попередження порушень процесів ліпопероксидації у породіль факторами ризику інфекційних ускладнень після операції кесаревого розтину за допомогою флуренізиду і антибіотика зинацефу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 120 породіль після операції кесаревого розтину. Зі жінки були поділені на 5 груп: I (контроль) – 22 жінки без факторів ризику виникнення інфекційних ускладнень; II група – 26 жінок з факторами інфекційного ризику, які отримували традиційну профілактику післяпологових гнійно-запальних ускладнень; III – 26 жінок з факторами інфекційного ризику, яким згідно з традиційним лікуванням призначався флуренізид (по 0,1 г протягом 5 днів перед операцією кесаревого розтину у формі піхвотих свічок); IV – 24 жінки з факторами ризику,

І.В. Корда, Л.М. Маланчук – д.м.н., М.М. Корда – м.н., 2000.

яким проводилася профілактика антибіотиком зинацефом (1,5 г внутрішньовенно зразу ж після вилучення плода і перетиснення пуповини, 750 мг – через 8 год після операції, 750 мг – через 16 год після операції); V група – 22 пацієнтки з факторами ризику, яким проводилася комплексна профілактика за допомогою флуренізиду і зинацефу.

Кров брали зранку натще у кількості 8-10 мл з ліктьової вени. Плазму отримували шляхом центрифугування гепаринізованої крові протягом 20 хв при швидкості 3000 обертів за 1 хв. Жінок обстежували при поступленні в стаціонар, на 1-2, 5-6 і 9-10 доби післяопераційного періоду.

Про активність вільнорадикальних реакцій судили за параметрами спонтанної та ініційованої хемілюмінесценції (ХЛ) [3], про функціонування антиоксидної системи – за активністю каталази (КТ) [6], вмістом церулоплазміну (ЦП) [5] і відновленого глутатіону (GSH) [8]. Обробку отриманих результатів проводили статистичним методом з використанням критерію Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати досліджень показали, що до операції суттєвої різниці між інтенсивністю процесів ліпопероксидації у вагітних без факторів інфекційного ризику і з такими не було, хоча тенденція до підвищення величини спонтанної ХЛ плазми крові вагітних II-V груп мала місце (рис. 1). У післяопераційний період інтенсивність спонтанного надслабкого світіння плазми крові всіх груп жінок різко зростала. Це, очевидно, пов'язано із післяопераційною інтоксикацією організму.



Інтенсивність процесів ПОЛ на 5-6 доби після операції у породіль, яким вводили окремо флуренізид чи зинацеф, була достовірно нижчою, порівняно з аналогічним показником у відповідний термін у породіль II групи. Ще в більшому ступені запобігало активації ліпопероксидних процесів поєднане застосування препаратів – у породіль V групи величина спонтанної ХЛ плазми крові була достовірно нижчою від такої жінок II групи як на 1-2, так і на 5-6 доби дослідження. Крім того, активність ПОЛ у породіль V групи на 1-2 доби після операції була статистично значуще меншою, порівняно з такою у відповідний термін у жінок, яким препарати вводились окремо.

Інтенсифікація вільнорадикальних реакцій може бути наслідком не тільки посиленого утворення вільних радикалів, але й зменшення вмісту в крові компонентів системи антиоксидного захисту. На користь такого припущення свідчать і отримані нами результати суттєвого підвищення світлосуми ХЛ плазми крові в післяопераційний період у жінок усіх груп і, особливо, у породіль II групи (рис. 2). У жінок з факторами ризику, які лікувалися загальноприйнятими методами, світлосума ХЛ в післяопераційному періоді трималася достовірно вищою, порівняно з відповідним показником до операції, протягом всіх трьох термінів дослідження, тоді як у породіль, яким призначали окремо флуренізид або зинацеф, величина світлосуми ХЛ була достовірно вищою від такої до операції протягом 6-и днів пуерперію, а у породіль з комбінованим застосуванням препаратів – тільки на 1-2 доби після операції. Позитивний вплив флуренізиду і зинацефу проявився також у тому, що у породіль III і IV груп світлосума ХЛ була нижчою, ніж така у відповідні строки у жінок II групи.

Найкращого ефекту вдалося досягнути при поєднаному застосуванні препаратів.

Ми проаналізували також інші параметри ініційованої перекисою водню ХЛ – амплітуду спалаху (АС) і коефіцієнт стимулювання ХЛ. Як і в попередніх випадках, достовірної різниці між показниками АС в передопераційному періоді у вагітних контрольної групи ((233,0+21,6) ум. од.) і жінок підвищених груп ризику ((230,6+14,2) ум. од., (239,6+25,0) ум. од., (245,0+18,2) ум. од., (238,5+22,5) ум. од. – відповідно у жінок II-V груп) не було. Після операції АС ХЛ зростала у породіль усіх груп, проте найдовший час найвищим цей показник був у жінок II групи. Це вказує на те, що у крові жінок групи інфекційного ризику після операції кесаревого розтину здатність субстратів окислюватися зростає у більшому ступені, ніж у породіль, які не мають факторів ризику розвитку септичних ускладнень.

У всіх групах жінок у всі терміни післяопераційного періоду мала місце тенденція до зростання коефіцієнта стимулювання ХЛ. Цей факт також підтверджує те, що вміст у крові породіль у післяопераційному періоді ліпідів з ненасиченими зв'язками, які легко окислюються з утворенням радикальних форм, зростає.

Під впливом флуренізиду мала місце тенденція до зменшення АС ХЛ в усі терміни дослідження, проте достовірно нижчим, порівняно з II групою, показник був лише на 1-2 доби післяопераційного періоду ((400,0+20,6) ум. од. проти (480,0+22,5) ум. од.). Профілактика зинацефом на показники амплітуди спалаху ХЛ достовірного впливу не справила. Ні флуренізид, ні зинацеф суттєвого впливу на показник стимулювання ХЛ також не мали.

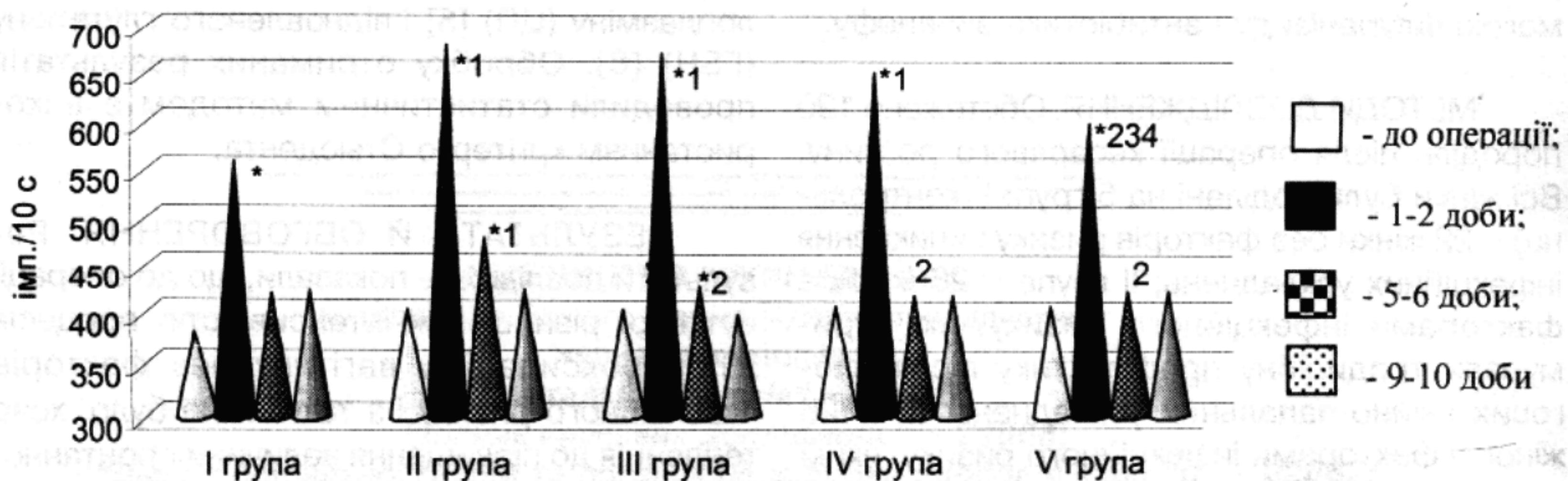


Рис. 1. Вплив флуренізиду і зинацефу на інтенсивність спонтанної ХЛ плазми крові породіль у динаміці післяопераційного періоду.

Примітка. Тут і в наступних рисунках: \* – зміни достовірні порівняно з показником до операції тієї ж самої групи, 1 – зміни достовірні порівняно з показником у відповідний термін I групи жінок, 2 – зміни достовірні порівняно з показником у відповідний термін II групи жінок, 3 – зміни достовірні порівняно з показником у відповідний термін III групи жінок, 4 – зміни достовірні порівняно з показником у відповідний термін IV групи жінок ( $p < 0,05$ ).



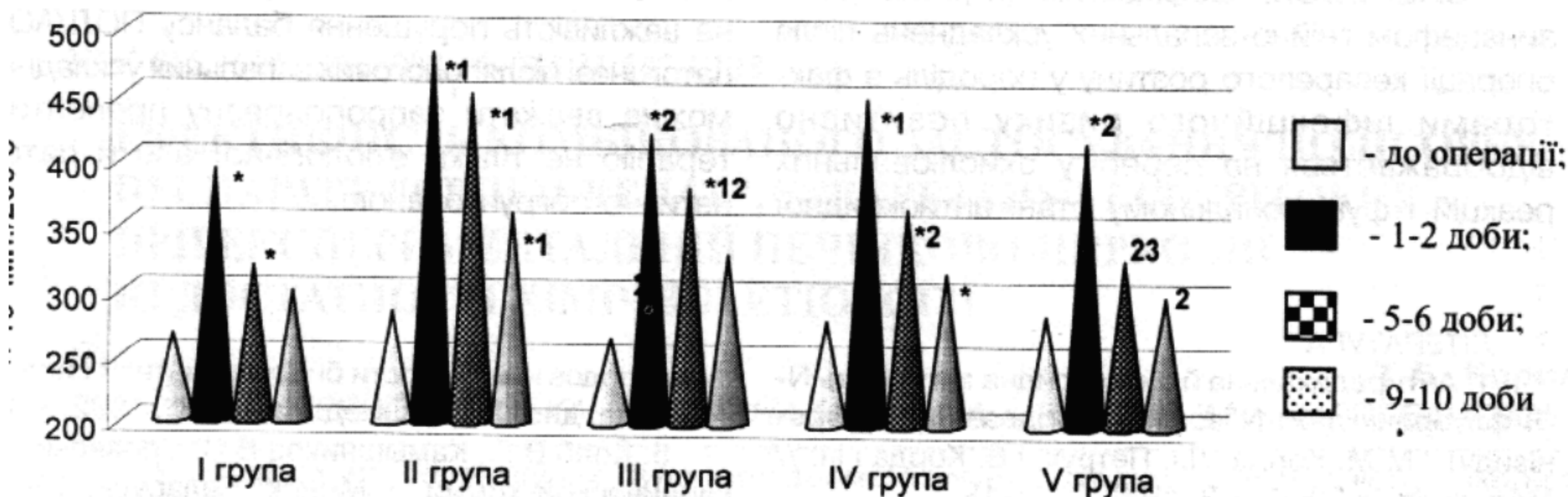


Рис. 2. Вплив флуренізиду і зинацефу на величину світлосуми ХЛ плазми крові породіль у динаміці післяопераційного періоду.

Одним з основних антиоксидних ферментів клітини вважається КТ. Її активність у плазмі ігтних II-V груп у передопераційний період була достовірно нижчою, порівняно з контролем (рис. 3). Операція кесаревого розтину ще льше підсилила ці негативні зміни. Навіть у роділь, які не мали передумов до виникнення ійно-септичних захворювань, активність КТ післяопераційному періоді суттєво знижувалася. Подібна закономірність спостерігалася з боку вмісту ЦП і GSH в плазмі крові.

Отже, у жінок з факторами ризику виникнення інфекційних ускладнень має місце пригнічення функціонального стану антиоксидної системи, яке особливо загострюється після операції кесаревого розтину. Механізм цього пригнічення, очевидно, полягає у посиленому витрачанні компонентів АОС на нейтралізацію вільних радикалів та перекисів, і утворюються у підвищеній кількості при окислювальних процесах в організмі та післяопераційній інтоксикації. Можливо також, що результатом інтоксикаційного синдрому, збільшення активності фосфоліпаз і протеаз порушується гомеостаз, відбувається заокислення білків, внутрішньоклітинного середовища гепатоцитів та клітин інших органів, в результаті чого, по-перше, безпосередньо пригнічується активність антиоксидних ферментів, а, по-друге, порушується їх синтез у печінці та інших органах.

Профілактичне застосування флуренізиду в передопераційному періоді та інтраопераційне введення антибіотика зинацефу супроводжувалося частковою нормалізацією порушеного функціонального стану системи антиоксидного захисту. Зокрема, окреме введення препаратів призвело до достовірного підвищення активності КТ на 9-10 доби післяопераційного періоду. Під впливом комбінованої профілактики даний показник достовірно збільшувався у всі терміни дослідження, порівняно з II групою породіль. Спостерігалася загальна тенденція до підвищення показників вмісту ЦП під впливом проведеної профілактики як за допомогою комбінації флуренізиду і зинацефу, так і при окремому їх введенні, проте зміни виявилися статистично недостовірними. У результаті профілактичного застосування флуренізиду вміст відновленого глутатіону на 5-6 доби після операції був достовірно вищим від такого у породіль, яким проводилася традиційна профілактика ((46,20±2,15) ммоль/л проти (41,95±2,12) ммоль/л). Така сама ситуація спостерігалася і при проведенні профілактики зинацефом ((48,24±1,10) ммоль/л) проти (41,95±2,12) ммоль/л). Ще в більшому ступені вміст GSH підвищувався при комбінованому застосуванні флуренізиду і зинацефу ((52,10±5,12) ммоль/л).

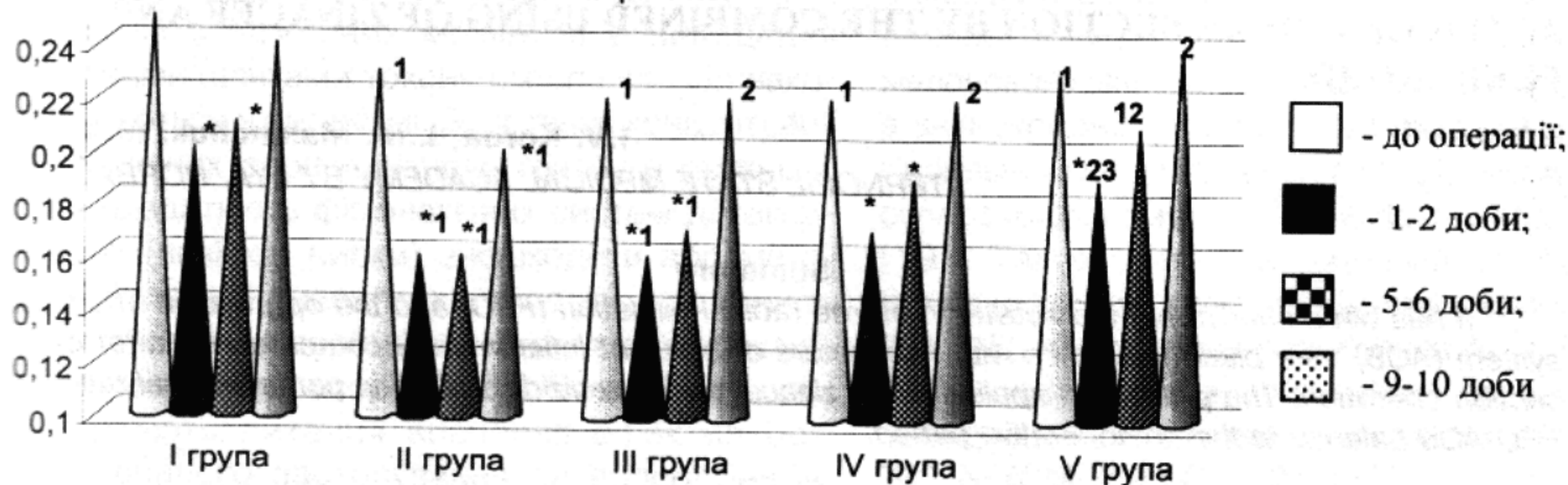


Рис. 3. Вплив флуренізиду і зинацефу на активність каталази плазми крові породіль у динаміці післяопераційного періоду.



**ВИСНОВОК.** Профілактика флуренізидом і зинацефом гнійно-запальних ускладнень після операції кесаревого розтину у породіль з факторами інфекційного ризику позитивно відображається на перебігу окислювальних реакцій і функціональному стані антиоксидної

системи в післяопераційному періоді. Зважаючи на важливість порушення балансу ПОЛ/АОС у патогенезі післяпологових запальних ускладнень, можна вважати запропоновану превентивну терапію не тільки етіологічно, але й патогенетично обґрунтованою.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Антирадикальна й антиоксидна активність N-(9-флуореніліден)-N'ізонікотиногідрозиду (флуренізиду) / М.М. Корда, Л.І. Петрух, І.В. Корда і ін. // Мед. хімія. – 2000. – 2, № 2. С. 15-18.

2. Грищенко В.І., Потапова Л.В. Роль перекисного окислення ліпідів і антиоксидантної системи в патогенезі післяродових гнійно-септичних захворювань // ПАГ. – 1990. – № 5. – С. 37-39.

3. Журавлев А.К., Шерстнев М.П. Метод регистрации перекисной хемилюминесценции плазмы крови // Лаб. дело. – 1985. – № 10. – С. 586-587.

4. Жиляев Н.И. Диагностика и лечение воспалительных заболеваний внутренних половых органов женщин на основе оценки перекисного окисле-

ния липидов и активности биооксидантной системы: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – К., 1992. – 35 с.

5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.

6. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

7. Профилактика гнойно-воспалительных заболеваний после оперативного родоразрешения / Е.Т. Михайленко, Б.М. Венцовский, Л.В. Тимошенко и др. // Методические рекомендации. – К., 1991. – 22 с.

8. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – Vol. 82. – P. 70-77.

### ПРОФИЛАКТИКА НАРУШЕНИЙ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ЖЕНЩИН ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ СОВМЕШНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЗИНАЦЕФА И ФЛУРЕНИЗИДА

**И.В. Корда, Л.М. Маланчук, М.М. Корда**

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

Показано, что у женщин с факторами риска возникновения инфекционных осложнений после операции кесарева сечения имеет место активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) и угнетение функционального состояния антиоксидантной системы (АОС). Профилактическое применение зинацефа и флуренезида частично предупреждало нарушения равновесия СРО/АОС в послеоперационном периоде.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** кесарево сечение, инфекционные осложнения, профилактика, флуренезид, зинацеф.

### PROPHYLAXIS OF THE VIOLATIONS OF OXIDATIVE PROCESSES IN WOMEN AFTER CESAREAN SECTION BY THE COMBINED USING OF ZINACEF AND FLURENIZID

**I.V. Korda, L.M. Malanchuk, M.M. Korda**

TERNOPII STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

#### Summary

It has been shown that the activation of free radical oxidation (FRO) and the oppression of antioxidant system (AOS) take place in women with risk factors of purulent-inflammatory complications after cesarean section operation. The preventive application of zinacef and flurenizid resulted in partial normalization of the FRO/AOS balance in the postoperative period.

**KEY WORDS:** cesarean section, infection complications, prophylaxes, zinacef, flurenizid.

Отримано 20.06.2000 р.



## ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІСОРБУ, ПРЕПАРАТУ "СЕЛЕН-ХЕЛАТ", ТРЕКРЕЗАНУ І ЕСБЕРИТОКСУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПЕЧІНКОВО-НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ ХІМІЧНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Т.Б. Корильчук

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*У досліджах на білих щурах було експериментально доведено ефективність використання ентеросорбенту полісорбу, препарату селену, трекрезану й есберитоксу при печінково-нирковій недостатності хімічної етіології.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** полісорб, препарат "Селен-хелат", трекрезан, есберитокс, печінково-ниркова недостатність.

**ВСТУП.** Екологічні катаклізми, що пов'язані з науково-технічним прогресом, призвели до значного збільшення частоти і широти нозологічного спектра захворювань печінки і нирок, серед яких токсичні ураження займають одне з провідних місць [10, 20]. У сучасних умовах широке і, на жаль, часто невиправдане застосування медикаментозних засобів без врахування функціонального стану організму, тим більше при комбінованій фармакотерапії, призводить до порушення структури і функції печінки та нирок, оскільки основні процеси біотрансформації і виведення лікарських препаратів перебігають саме в цих органах [6, 11]. На сьогодні нараховують понад 1000 медикаментозних засобів і приблизно 6 мільйонів інших хімічних сполук, здатних викликати ураження печінки і нирок [12, 20], особливо в людей із спадковою схильністю [16].

Зважаючи на значну кількість лікарських засобів, які використовуються у комплексній терапії печінково-ниркової недостатності, одним з важливих моментів є виведення різними шляхами токсичних сполук, що накопичуються в організмі. Зростання концентрації токсичних сполук різного генезу в організмі та нездатність фізіологічних систем детоксикації (печінка, нирки) знешкодити або метаболізувати і вивести їх зумовлює доцільність використання сорбційних методів детоксикації, зокрема ентеросорбції. Особливу увагу привертають питання вивчення ефективності поєданого застосування ентеросорбентів, селеновмісних препаратів, імуномодуляторів при цій паталогії.

© Т.Б. Корильчук, 2000.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Нами проведено дослідження на 48 білих щурах. Усіх тварин поділили на 4 групи. У першій групі вивчали функціонально-біохімічний стан печінки і нирок в інтактних щурів (контроль). У тварин другої групи викликали їх ураження шляхом введення 50 % олійного розчину чотирихлористого вуглецю в дозі 4 мл/кг маси щоденно протягом 4-х днів і 1 % розчину етиленгліколю з питною водою протягом 7 днів. Третій групі щурів вводили на фоні  $CCl_4$  і етиленгліколю препарат "Селен-хелат" і есберитокс відповідно у дозах 50 мг/кг і 20 мг/кг та полісорб у дозі 0,5 г/кг. Тварини четвертої групи отримували відповідно препарат селену – 50 мг/кг, трекрезан – 20 мг/кг та полісорб – 0,5 г/кг. Дослідних щурів забивали шляхом декапітації під 1 % барбітатовим наркозом на 8-й день.

У сироватці крові визначали активність аланінамінотрансферази (АлАТ) за методом [24]. Стан переокисного окислення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом у крові, гомогенатах печінки і нирок дієнових кон'югат (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) за методом [23], а антиоксидної системи – за вмістом сульфгідрильних і дисульфідних груп [21], активністю супероксиддисмутази [7], вмістом вітаміну Е [19]. Також вивчали імунний статус за показниками циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [5], вмістом імуноглобулінів А, G, М [7]. Стан ендотоксикозу оцінювали за вмістом середніх молекул при довжині хвилі 254 і 280 нм (СМ-254 і СМ -280) [3].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Аналіз результатів проведених досліджень показав,



до при поєднаному введенні препарату елену, полісорбу, есберитоксу, як і у групі варин, яким замість есберитоксу вводили рекрезан, активність АлАТ у сироватці крові була на рівні контролю (рис. 1). Поряд з цим спостерігають зниження накопичення продуктів ПОЛ (МДА в крові) після введення першої групи препаратів на 27 %, а після другої – на 38 %, порівняно з ураженими щурами. Такі зміни з боку ПОЛ спостерігають і в печінці. Рівень ДК під впливом вищевказаних комбінацій був меншим відповідно на 22 і 28 %, порівняно з нелікованими тваринами. Застосування препарату селену, полісорбу, есберитоксу, а також перших двох і трекрезану призводить до зниження рівня продуктів ПОЛ і в нирках.

Позитивні зміни виявлено і з боку антиоксидантної системи. При поєднаному введенні препарату селену, полісорбу, есберитоксу, як і у групі тварин, яким замість есберитоксу вводили трекрезан, спостерігали відновлення рівня SH груп, показники яких були на рівні контролю. Разом із тим, відбувалось зниження вмісту S-S груп, зокрема після введення препаратів з есберитоксом – на 44 %, а з трекрезаном – на 56 %, порівняно з щурами, яким вводили  $CCl_4$  і етиленгліколь. Крім цього, виявлено зростання активності СОД під дією препарату селену, полісорбу та есберитоксу на 42 %, а після введення препарату селену, полісорбу і трекрезану – на 14 %, порівняно з ураженими тваринами, тоді

як рівень вітаміну Е зростає на 16 і 24 % (табл. 1).

Комбіноване введення препарату селену, полісорбу, трекрезану або есберитоксу позитивно впливає і на антиоксидантний стан нирок. Так, під дією препарату селену, полісорбу й есберитоксу рівень SH-груп зростає на 39 %, тоді як при введенні трекрезану, препарату селену і полісорбу вміст SH-груп досягнув рівня контролю. Активність СОД підвищувалась під впливом першої групи препаратів на 25 %, другої – на 27 %. Що стосується вмісту вітаміну Е, то під дією вищевказаних препаратів він зростає відповідно тільки на 6 і 14 %, порівняно з нелікованими щурами.

Дані комбінації препаратів спричиняли позитивну дію і на імунний статус. Зокрема, після введення препарату селену, полісорбу, есберитоксу рівень ЦІК зменшився на 41 %, препарату селену, полісорбу і трекрезану – на 45 %, порівняно з нелікованими тваринами. Разом із тим, знижувався і рівень імуноглобулінів. Під дією першої групи препаратів спостерігали зменшення імуноглобулінів G на 25 %, а M – 53 %. Також знижувався їх рівень і під впливом препарату селену, полісорбу та трекрезану.

Використання комбінації даних препаратів покращує показники ендотоксикації. Як видно з таблиці 1, рівень середніх молекул при довжині хвилі 254 нм після введення препарату селену, полісорбу,

Таблиця 1 – Вплив препарату "Селен-хелат", полісорбу, есберитоксу на антиоксидантний стан, імунний статус і стан ендотоксикозу при печінково-ниркової недостатності хімічної етіології

Показники	1-а група	2-а група	3-я група	4-а група
<b>Печінка</b>				
ДК, ммоль·кг <sup>-1</sup>	0,0014±0,001	0,036±0,002*	0,028±0,001**	0,026±0,001**
SH-групи, ммоль·кг <sup>-1</sup>	3,73±0,09	3,30±0,09*	4,50±0,09**	4,50±0,17**
S-S-групи, ммоль·кг <sup>-1</sup>	1,64±0,19	4,50±0,19*	2,50±0,14**	2,00±0,11**
СОД, ум.од.·кг <sup>-1</sup>	26,06±0,43	14,00±0,32*	20,00±0,64**	21,57±0,70**
Віт. Е, мкмоль·кг <sup>-1</sup>	87,70±1,01	69,26±0,75*	80,50±0,75**	85,70±0,37**
<b>Нирки</b>				
ДК, ммоль·кг <sup>-1</sup>	0,015±0,001	0,031±0,001*	0,025±0,001**	0,023±0,001**
SH-групи, ммоль·кг <sup>-1</sup>	4,52±0,11	2,25±0,15*	4,00±0,25**	5,40±0,21**
S-S-групи, ммоль·кг <sup>-1</sup>	0,87±0,14	2,70±0,21*	2,30±0,16**	1,40±0,11**
СОД, ум.од.·кг <sup>-1</sup>	17,80±0,86	12,30±0,16*	16,67±0,16**	17,14±0,18**
Віт. Е, мкмоль·кг <sup>-1</sup>	84,59±1,29	66,10±0,37*	71,20±0,56**	77,80±0,95**
<b>Кров</b>				
ЦІК, ум.од.	60,0±1,10	177,0±15,30*	104,00±5,70**	98,01±6,40**
Імуноглобуліни, г·л <sup>-1</sup>				
A	0,83±0,12	1,20±0,21	0,80±0,13	0,57±0,12**
G	5,10±0,19	7,10±0,26*	5,30±0,15**	5,38±0,19**
M	0,62±0,10	1,71±0,05*	0,80±0,11**	0,58±0,09**
СМ 254 нм, ум.од.	267,2±1,7	470,0±52,1*	293,0±9,0**	252,0±40,9**
СМ 280 нм, ум.од.	121,0±1,04	256,0±23,3*	170,0±8,6	132,6±30,1**

Примітка. \* – зміни достовірні стосовно показників 1-ї групи тварин (p<0,05);

\*\* – зміни достовірні стосовно показників 2-ї групи тварин (p<0,05).



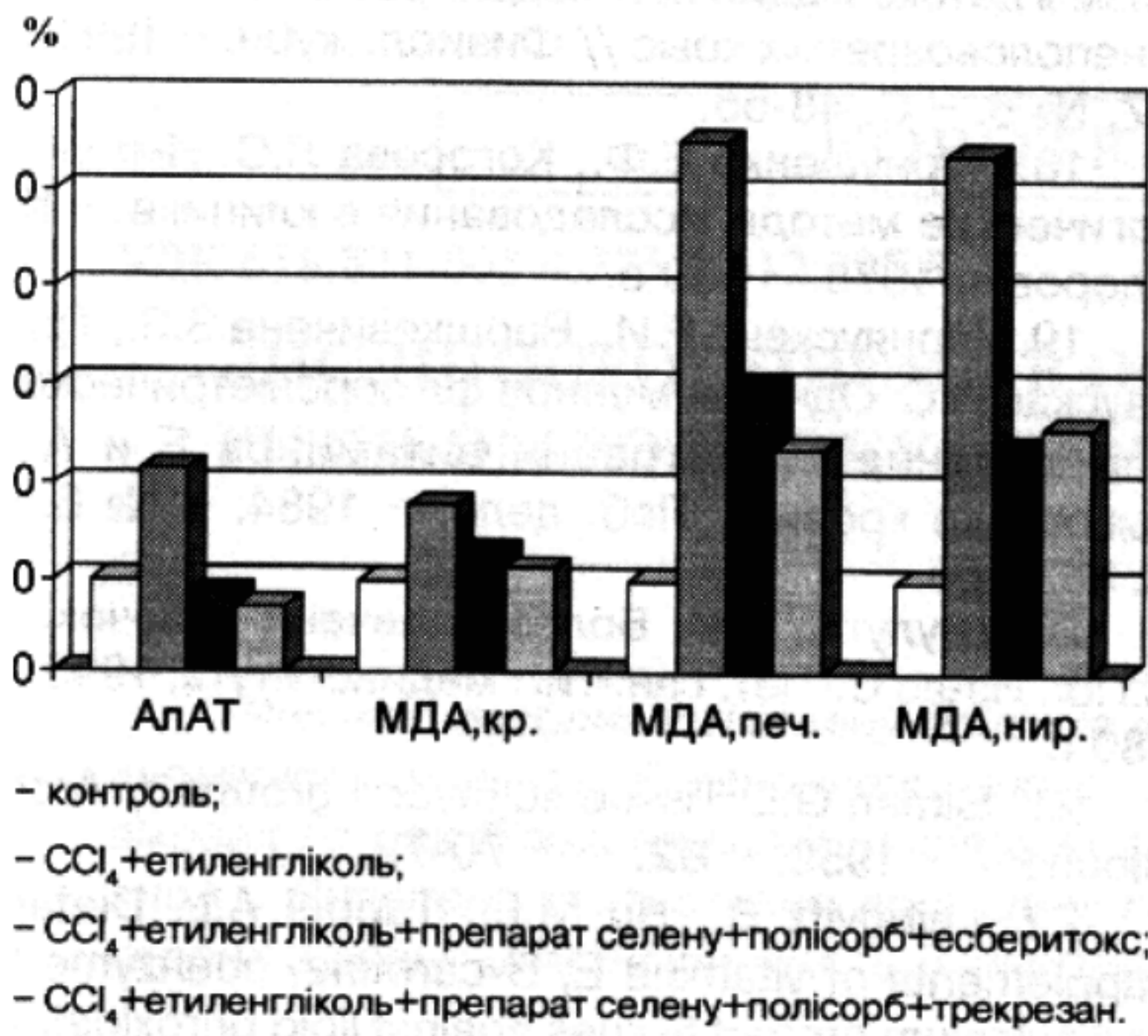


Рис.1. Вплив препарату селену, полісорбу, есберитоксу і трекрезану на активність АлАТ і вміст продуктів ЛЛ після введення CCl<sub>4</sub> і етиленгліколю.

беритоксу знизився на 37 %, порівняно з аженними тваринами, препарату селену, лісорбу і трекрезану – до контрольних цифр. дбувалось також зменшення концентрації редніх молекул при довжині хвилі 280 нм.

На наш погляд, позитивний ефект від мбінованого застосування вищезгаданих епаратів при експериментальній печінково-рковій недостатності зумовлений зне-одженням і виведенням з організму ксичних речовин різної хімічної будови і лекулярної маси і зниженням ступеня догенної інтоксикації, пригніченням процесів ЛЛ, підвищенням активності антиоксидної стемі і покращанням імунного статусу. Це в'язано з кремнійорганічним ентеросор-нтом полісорбом, який є ефективним при ксичних ураженнях печінки [2]. Важливим ктором детоксикаційного впливу ентеро-рбентів є посилення процесів знешкодження різних мембранних структурах печінки [17].

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.Л., Рши М.А. и Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1981. – 496 с.
2. Білик Л.С. Ефективність ентеросорбції полісорбом при тяжкій формі ураження печінки // и. – 1995. – № 1. – С. 78-79.
3. Габризян Н.И., Левицкий Э.Р., Щербане-О.И., Порядин Н.Ф. Гипотеза средних молекул рактике клинической нефрологии // Тер. архив. – 1983. – № 6. – С. 76-78.
4. Гарник Т.П. Зміни показників імунної реактив-ті у хворих на хронічні гепатити під впливом ком-жсної терапії із застосуванням препаратів ехіна- // Клін. фармац. – 1999. – 3, № 2. – С. 145-147.

На можливість активації каталітичних процесів біотрансформації частини високотоксичних продуктів у менш токсичні за рахунок кисню, який міститься у порах сорбенту, вказують В.С. Земсков і співавтори [9]. Встановлено, що гранульовані сорбенти мають здатність активно утримувати на своїй поверхні креа-тинін, сечовину, середні молекули, тобто так звані уремичні токсини [14]. Позитивні зміни з боку антиоксидної системи та пригнічення ПОЛ відбувалися також завдяки препаратам "Селен-хелат" та трекрезан. Відомо, що пре-парат "Селен-хелат" містить у своєму складі мікроелемент селен, лецитин, вітаміни Е і С, що дає йому можливість мати виражений антиоксидний вплив, оскільки всі ці інгредієнти відіграють важливу роль у вільнорадикальних процесах [15, 22]. Наявність у препаратів трекрезану і есберитоксу імуномодулювальних властивостей [4, 8] сприяє покращання імунного статусу. Ефективність трекрезану ми пов'язуємо з антигіпоксантиною, мембраноста-білізувальною діями, стимулювальним впливом на активацію регенерації [8, 13]. Важливим фактором гепато- і нефропротекторної дії препарату ехінацеї – есберитоксу є вміст бета-гліцину, який виконує функцію гепатопр-тектора, та наявність макро- та мікроеле-ментів, таких як цинк, мідь, селен, марганець, залізо, кобальт [4]. Останні забезпечують різноманітні біохімічні функції [1], тим самим підтримуючи життєві процеси організму.

**ВИСНОВОК.** Результати наших до-сліджень показали, що поєднане введення полісорбу, препарату "Селен-хелат" з есбе-ритоксом або трекрезаном є ефективним способом профілактики і раннього лікування печінково-ниркової недостатності хімічної етіології.

5. Гриневиц Ю.А., Каменец Л.Я. Основы клинической иммунологии опухолей. – К.: Здоров'я, 1986. – С. 158.
6. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 166 с.
7. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимо-ва Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-33.
8. Забокрицький А.В., Шманько В.В. Фармако-динамічні властивості трекрезану // Ліки. – 1997. – № 2. – С. 24-26.
9. Земсков В.С., Шор-Чудновский М.Е., Кар-тель Н.Е. О возможном механизме лечебного



- эффекта энтеросорбции // *Клин. хирургия.* – 1988. – № 3. – С. 61-62.
10. Игнатов М.С., Харина Е.А., Спицин В.А. и др. Экопатология почек и индивидуальная чувствительность к солям тяжелых металлов // *Тер. архив.* – 1997. – № 6. – С. 44-49.
11. Лакин К.М., Крилов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. – М.: Медицина, 1981. – 344 с.
12. Логинов А.С., Аруин Н.И. Клиническая морфология печени. – М.: Медицина, 1985. – 240 с.
13. Расулов М.М., Кузнецов Н.Г., Белоусов А.А. Трис-(2-оксиэтил)-аммоний ортокрезоксиацетат – стимулятор активности регенерации гепатоцитов // *Бюл. эксперим. биол.* – 1992. – 114, № 11. – С. 480-483.
14. Рысс Е.С., Рябов С.И., Лутошкин М.Б. Сравнительная оценка эффективности клинического использования сорбентов типа СКН-4 м, СКТ-6 А и полифепана при лечении больных с хронической почечной недостаточностью // *Тер. архив.* – 1996. – № 8. – С. 39-43.
15. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. Клиническая фармакология гепатопротекторов. – Тернополь: Збруч, 1995 – 272 с.
16. Скакун Н.П. Клиническая фармакогенетика. – К.: Здоров'я, 1981. – 200 с.
17. Тараховский М.Л., Ципкун А.Г., Сергеев В.П. и др. Эффективность энтеросорбентов и механизмы детоксикации при моделированном гепатите у неполовозрелых крыс // *Физиол. журн.* – 1991. – 37, № 6. – С. 48-55.
18. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. Иммунологические методы исследования в клинике. – К.: Здоров'я, 1978. – 159 с.
19. Черняускене Р.И., Варшкевичене З.З., Трибаускас П.С. Одновременное флюорометрическое определение концентрации витаминов Е и А в сыворотке крови // *Лаб. дело.* – 1984. – № 6. – С. 362-365.
20. Шулушко Б.И. Болезни печени и почек. – С.Пб.: Из-во С.-Пет. сан.-гиг. мединститута, 1993. – 480 с.
21. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem.* – 1959. – 82. – P. 70-72.
22. Leibovitz B., Hu M.L., Tappel A.L. Dietary supplements of vitamins E, B-carotene, coenzyme Q and selenium protect tissues against lipid peroxidation in rat tissue slices // *Nutr.* – 1990. – 120, № 1. – P. 52-104.
23. Placer Z. Lipoperoxidation Systeme in Biologishn material 2. Mitt. Bastimmungung Lipoperoxidation in Saugtierorganismen // *Die Nahrung.* – 1968. – 12, № 6. – S. 679-684.
24. Reitman S., Frankel S.A. Colorimetric assay of the transaminase activity // *Amer. J. Clin. Pathol.* – 1959. – 28, № 1. – P. 56-60.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИСОРБА, ПРЕПАРАТА "СЕЛЕН-ХЕЛАТ", ТРЕКРЕЗАНА И ЭСБЕРИТОКСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНОЧНО-ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ

**Т.Б. Корыльчук**

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

В опытах на белых крысах было экспериментально обосновано использование энтеросорбента полисорба, препарата селена, трекрезана и эсберитокса для повышения эффективности фармакотерапии печеночно-почечной недостаточности химической этиологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полисорб, препарат "Селен-хелат", трекрезан, эсберитокс, печеночно-почечная недостаточность.

## THE EFFECTIVENESS OF COMBINED APPLICATION OF POLYSORB, MEDICINE "SELEN-HELAT", TRECRESAN AND ESBERITOCES AT EXPERIMENTAL HEPATO-RENAL INSUFFICIENCY OF CHEMICAL ETIOLOGY

**T.B. Korylchuk**

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

The usage of enterosorbents – polysorb, medicine "Selen-Helat", trecresan and esberitoccs for increase of pharmacotherapeutic effectiveness at hepato-renal insufficiency of chemical etiology was scientifically proved on white rats during the experiments.

KEY WORDS: polyssorb, medicine "Selen-Helat", trecresan, esberitoccs, hepato-renal insufficiency.

Отримано 12.06.2000 р.



УДК 616.831-005.4:575.1:612.397.8

**ДИСЛІПОПРОТЕЇНЕМІЇ В ОСІБ ІЗ ВИСОКИМ ГЕНЕТИЧНИМ РИЗИКОМ РОЗВИТКУ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ****С.М. Новікова, В.В. Кузнецов, І.І. Глазовська**  
ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ

*Вивчено особливості обміну ліпідів та ліпопротеїнів у осіб із високим генетичним ризиком розвитку ішемічного інсульту. Встановлено, що в найближчих родичів хворих з ішемічним інсультом в усіх вікових групах більш низький, порівняно з контрольною групою, рівень генетично детермінованого апоА1. Виявлено статистично достовірні коефіцієнти кореляції між показниками ліпідного обміну у хворих з ішемічним інсультом та їх найближчих родичів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** дисліпопротеїнемії, ішемічний інсульт, апоА1.

**ВСТУП.** Добре відомо, що основною причиною розвитку ішемічного інсульту є атеросклеротичне оклюзивне ураження магістральних артерій голови. Серед численних факторів ризику в патогенезі атеросклеротичного ураження судин важливу роль відіграють дисліпопротеїнемії (ДЛП) – порушення ліпідного та ліпопротеїнового метаболізму.

На відміну від коронарної хвороби серця, при якій встановлено тісний кореляційний зв'язок між ДЛП та ураженням коронарних артерій, при ішемічному інсульті такі дані відсутні. Разом із тим, виявлено підвищений вміст у крові загального холестерину та/або тригліцеридів, а також апоВ-ліпопротеїнів у хворих з ішемічним інсультом [5, 9]. Результати проспективного Фремінгеймського дослідження продемонстрували навіть зворотний зв'язок між концентрацією холестерину, холестерину ліпопротеїнів низької щільності та інфарктом мозку [12]. В дослідженнях, в яких враховували гетерогенність інсульту, найбільш постійні зміни ліпідів та ліпопротеїнів виникли у хворих з ішемічним інсультом, пов'язаним з атеросклеротичним ураженням магістральних артерій голови, на відміну від хворих із лакунарним інсультом, в основі якого лежать інші патогенетичні механізми [8].

Найбільш прогностично важливим маркером ризику розвитку атеротромбозу судин є низький рівень ліпопротеїнів високої щільності. Показано зниження цього показника у хворих з ішемією мозку [11]. Зв'язок ДЛП з ішемічними проявами атеросклеротичного ураження магістральних артерій значною мірою визначається акцепторно-транспортними властивостями ліпопротеїнів.

Згідно із сучасними уявленнями, ці властивості визначаються білковими компонентами ліпопротеїнів – апопротеїнами, структура і властивості яких генетично детерміновані [6, 7].

Беручи до уваги те, що в осіб з обтяженим церебральною судинною патологією генеалогічним анамнезом вища частота стенозуючого ураження екстракраніального відділу каротидного басейну [2], метою нашої роботи було вивчення характеру ДЛП у найближчих родичів хворих з ішемічним інсультом, як осіб із високим генетичним ризиком розвитку ішемічного інсульту.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктом дослідження були найближчі родичі хворих з ішемічним інсультом (РХІІ) у каротидному басейні 20-69 років (80 осіб), хворі із ішемічним інсультом (ХІІ) у каротидному басейні 30-79 років (92); та практично здорові особи 20-79 років (87), які склали контрольну групу (КГ).

У плазмі крові людей визначали:

- 1) вміст загального холестерину [4], стандартні набори "Boehringer" (Німеччина);
- 2) вміст холестерину в ліпопротеїнах високої щільності (ЛПВЩ), виділених шляхом ультрацентрифугування та преципітації [10] за методом [4], стандартні набори "Boehringer" (Німеччина);
- 3) вміст апоВ-ліпопротеїнів [3];
- 4) концентрацію апопротеїну А1 методом імунофорезу із специфічною антисироваткою та подальшим кількісним оцінюванням рівня білка [1];
- 5) розраховували коефіцієнт атерогенності (КА).



**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Провівши дослідження, ми не виявили достовірних змін рівня загального холестерину при порівнянні групи XII з групою РХІІ та стосовно КГ. Разом з тим, як видно з таблиці 1, вміст антиатерогенного холестерину в ЛПВЩ ХІІ нижчий, ніж РХІІ і КГ. Цьому відповідає зростання в цій групі коефіцієнта атерогенності, що, як відомо, свідчить про ступінь ризику розвитку атеросклеротичних змін.

Найбільший інтерес викликає аналіз концентрації апоА1, рівень якого генетично детермінований. Як видно з наведених даних, у РХІІ навіть у віці 20-29 років його концентрація значно нижча, порівняно з контрольною групою цього ж віку. Таку ж закономірність спостерігають і в наступних вікових групах – 30-69 років. Потрібно зазначити, що в цій групі рівень апоА1 набагато нижчий, порівняно не тільки з КГ, але і з ХІІ.

Таким чином, при аналізі показників ліпідного обміну видно, що в РХІІ порушення в генетично детермінованих показниках ліпопротеїнового метаболізму виражені більше, ніж у контрольній групі.

Чіткіше ця закономірність визначається при аналізі пацієнтів залежно від рівня показників ліпідного обміну. Так, у 38 % РХІІ вміст у крові загального холестерину перевищував допустиму норму (6,21 ммоль/л, ігідно з даними ВООЗ 1999 року), тоді як у контрольній групі таке підвищення виявлено лише в 17,3 % досліджених. Слід зазначити,

що найбільш високу частку осіб із підвищеним вмістом загального холестерину в крові спостерігають у вікових групах 40-49 та 50-59 років, відповідно 50 % і 33 %, тоді як у ХІІ цих вікових груп даний показник перевищував норму тільки у 20 % та 12,5 % досліджених.

При проведенні внутрішньосімейного аналізу виявлено високий кореляційний зв'язок між показниками ліпідного обміну у хворих з ішемічним інсультом та їх найближчих родичів. Так, коефіцієнт кореляції між показниками загального холестерину становив 0,78, холестерину ЛПВЩ – 0,75, апоВ-ліпопротеїнів – 0,77, КА – 0,81, апопротеїнів А1 – 0,87.

**ВИСНОВКИ.** 1. РХІІ являють собою особливу генетичну групу ризику розвитку церебрального атеросклерозу незалежно від віку, про що свідчать більш низький рівень генетично детермінованого апоА1 у всіх вікових групах РХІІ, порівняно з КГ, та наявність статистично достовірних коефіцієнтів кореляції між показниками ліпідного обміну у хворих з ішемічним інсультом та їх найближчих родичів.

2. Вікові групи 40-49 та 50-59 років РХІІ слід вважати групами найбільш високого ризику розвитку інсульту, оскільки саме в цей віковий період найбільша частка РХІІ має вміст холестерину, що перевищує допустиму норму.

3. Для визначення генетичного ризику розвитку інсульту визначення вмісту в крові апоА1 має найбільше прогностичне значення.

Таблиця 1 – Концентрація ліпідів та ліпопротеїнів в крові РХІІ, ХІІ та КГ

Вік	Загальний холестерин (мм/л)			α-холестерин (мм/л)		
	КГ	РХІІ	ХІІ	КГ	РХІІ	ХІІ
20-29	4,3±0,3	4,3±0,4	–	1,3±0,1	1,2±0,1	–
30-39	4,5±0,4	5,2±0,6	4,4±0,4	1,4±0,2	1,3±0,1	0,92±0,04
40-49	5,2±0,4	5,6±0,5	4,3±0,5	1,3±0,2	1,4±0,2	0,9±0,06
50-59	5,5±0,7	5,2±0,3	4,6±0,3	1,4±0,1	1,3±0,2	0,96±0,05
60-69	5,8±0,6	5,3±0,6	4,5±0,3	1,5±0,2	1,4±0,3	0,94±0,02
70-79	5,6±0,5	–	4,4±0,3	1,2±0,1	–	1,08±0,09

Продовження табл. 1

Вік	β-ліпопротеїни (г/л)			Коефіцієнт атерогенності			апо А1 (мг/мл)		
	КГ	РХІІ	ХІІ	КГ	РХІІ	ХІІ	КГ	РХІІ	ХІІ
20-29	2,6±0,4	2,7±0,5	–	2,3±0,2	2,7±0,3	–	2,2±0,2	1,40±0,20*	–
30-39	2,5±0,5	2,8±0,3	3,4±0,4	2,2±0,3	2,6±0,3	3,3±1,2	2,3±0,1	0,80±0,18*	1,60±0,04
40-49	3,1±0,3	2,9±0,6	3,5±0,6	2,9±0,2	2,7±0,4	3,2±0,3	1,9±0,2	0,59±0,09*	1,56±0,05
50-59	3,6±0,4	4,1±0,4	3,5±0,3	3,2±0,4	3,7±0,2	3,7±0,1	2,2±0,3	1,20±0,75*	1,37±0,04
60-69	3,8±0,5	3,5±0,3	3,6±0,3	2,9±0,1	3,5±0,2	3,5±0,2	1,7±0,3	1,30±0,11*	1,73±0,05
70-79	4,1±0,4	–	5,4±1,9	3,7±0,4	–	3,1±0,3	1,5±0,4	–	1,43±0,09

Примітка: \* – зміни достовірні, порівняно з контролем (p<0,05);

КГ – контрольна група;

РХІІ – найближчі родичі хворих з ішемічним інсультом;

ХІІ – хворі з ішемічним інсультом.



## ЛІТЕРАТУРА

1. Гааль Э., Медъеш Г., Верецкий Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. – М.: Мир, 1982. – 446 с.
2. Глазовская И.И. Особенности церебральной гемодинамики у лиц с высоким генеалогическим риском инсульта // Пробл. старения и долголетия. – 1999. – № 1. – С. 52-55.
3. Климов А.Н. Причины и условия развития атеросклероза // В кн.: Превентивная кардиология / Под ред. Г.И. Косицкого. – М.: Медицина, 1977. – С. 260-321.
4. Abel L.L. A simple method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity // J. Biol. Chem. – 1952. – **195**, № 5. – P. 357-365.
5. Bogouslavsky J., Castillo V., Kumral E. et al. Stroke subtypes and hypertension. Primary hemorrhage vs infarction, large-vs small-artery disease // Arch. Neurol. – 1996. – **53**, № 3. – P. 265-269.
6. Brass LM., Alberts MJ. The genetics of cerebrovascular disease // Baillieres. Clin. Neurol. – 1995. – **4**, № 2. – P. 221-245.
7. DeGraba T.J., Pemix L. Genetic of ischemic stroke // Curr. Opin. Neurol. – 1995. – **8**, № 1. – P. 24-29.
8. Doi Y., Yoshnari M., Yoshnari H. et al. Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene in patients with thrombotic brain infarction // Atherosclerosis. – 1997. – **132**, № 2. – P. 145-150.
9. Gorelick P.; Schneck M.; Berglund L. Status of lipids as a risk factor for stroke // Neuroepidemiology. – 1997. – **16**, № 3. – P. 107-115.
10. Lindgren F.T., Jensen L.C., Hatch F.T. The isolation and quantitative analysis of serum lipoproteins: Quantitation, Composition and Metabolism. – New York: John Wiley and Sons, Inc., 1972. – P. 181-174.
11. Yasaka M., Yamaguchi T., Shichiri M. Distribution of atherosclerosis and risk factors in atherothrombotic occlusion // Stroke. – 1993. – **24**, № 2. – P. 206-211.
12. Liado D., Myers R. Hunt S. et al. Familial history of stroke and stroke risk. The Family Heart Study // Stroke. – 1997. – **28**, № 10. – P. 1908-1912.

## ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ У ЛИЦ С ВЫСОКИМ ГЕНЕТИЧЕСКИМ РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

С.Н. Новикова, В.В. Кузнецов, И.И. Глазовская  
ИНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ

### Резюме

Изучены особенности обмена липидов и липопротеинов у лиц с высоким генетическим риском развития ишемического инсульта. Установлено, что у ближайших родственников больных с ишемическим инсультом во всех возрастных группах более низкий, по сравнению с контрольной группой, уровень генетически детерминированного апоА1. Обнаружены статистически достоверные коэффициенты корреляции между показателями липидного обмена у больных с ишемическим инсультом и их ближайших родственников.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дислиппротеинемии, ишемический инсульт, апоА1.

## DYSLIPOPROTEINEMIAS IN PATIENTS WITH A HIGH GENETIC RISK OF ISCHEMIC STROKE DEVELOPMENT

S.N. Novikova, V.V. Kuznetsov, I.I. Glazovskaya  
INSTITUTE OF GERONTOLOGY OF AMS OF UKRAINE

### Summary

Peculiarities of lipid and lipoprotein metabolism in patients with high genetic risk of ischemic stroke development have been studied. It was found that the level of genetically determined apoA1 in close relatives of the patients with ischemic stroke in all age groups is lower as compared with control group. Statistically reliable correlation coefficients between indices of lipid metabolism have been established in patients with ischemic stroke and their close relatives.

KEY WORDS: dyslipoproteinemias, ischemic stroke, apoA1.

Отримано 3.03.2000 р.



## ПРО ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ ВОВЧАКОВОЇ НЕФРОПАТІЇ

Н.Я. Панчишин, проф. Я.І. Гонський, Л.І. Белей  
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Обстежено 70 хворих на системний червоний вовчак з проявами вовчакової нефропатії, які отримували базисну терапію; 30 із них у лікувальний комплекс включено позасудинну магнітолазерну терапію в поєднанні з харчовим додатком із властивостями ентеросорбенту "Фібрабет". Встановлено, що застосування комплексної терапії у хворих на вовчакову нефропатію підвищує клінічну ефективність базисної терапії за рахунок позитивного впливу на стан імунітету та суттєвого зменшення рівня токсемії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: системний червоний вовчак, імунний статус, синдром токсемії, "Фібрабет", магнітолазерна терапія.

ВСТУП. Лікування уражень нирок при системному червоному вовчаку (СЧВ) до теперішнього часу залишається складним завданням, а відомості про ефективність різноманітних варіантів терапії досить суперечливі.

Метою нашої роботи було дослідження ефективності харчового додатка з властивостями ентеросорбенту "Фібрабет" у поєднанні з магнітолазерною терапією (МЛТ) в комплексному лікуванні вовчакової нефропатії.

Харчовий додаток "Фібрабет" – це комплекс харчових волокон, які виготовлені з рослинних продуктів. "Фібрабет" розроблений на кафедрі медичної хімії Тернопільської державної медичної академії й успішно апробований у клініці в комплексному лікуванні пацієнтів із патологією нирок та ознаками хронічної ниркової недостатності [2]. Крім харчових волокон, "Фібрабет" містить неорганічні сорбуючі речовини, природні антиоксиданти, вітаміни групи В, вітаміни Р і А, ліпотропні фактори, макро- і мікроелементи. "Фібрабет" рекомендований Інститутом гігієни і затверджений Міністерством охорони здоров'я як біологічно активний додаток для оздоровлення населення та профілактики захворювань.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 70 хворих (65 жінок та 5 чоловіків) у віці від 16 до 65 років з діагнозом СЧВ за критеріями Американської ревматологічної асоціації (1982). Ураження нирок констатовано у 70

хворих: у 2 із них – у вигляді активного вовчакового нефриту з нефротичним синдромом, у 19 – активного вовчакового нефриту із сечовим синдромом та у 49 – ізольованого сечового синдрому.

Усім хворим проводили детальне клінічне та лабораторне обстеження. Оцінювали імунологічний статус за загальноновизнаною методикою [3] – визначали загальну кількість Т- і В-лімфоцитів (Т-л, В-л) та їх субпопуляцій, рівень у плазмі крові імуноглобулінів А, М, G [4]. За норму взято дані імунограми, отримані у 20 донорів.

Синдром токсемії оцінювали за рівнем показників середніх молекул (СМ-254, СМ-280) та еритроцитарного індексу ендогенної інтоксикації (ЕІЕІ) [1].

Усі пацієнти отримували традиційну терапію, яка включала, залежно від ступеня активності процесу, глюкокортикостероїдні або цитостатичні препарати, нестероїдні протизапальні препарати, антикоагулянти та симптоматичні засоби у відповідних дозах (I група). Крім того, у проведеному нами дослідженні 30 хворих на СЧВ (II група) приймали харчовий додаток "Фібрабет" – по 1 столовій ложці 3 рази в день за 30 хв до їди, запиваючи склянкою теплої перевареної води. Для позасудинного магнітолазерного опромінювання (МЛО) крові хворих цієї ж групи використовували напівпровідниковий магнітолазер "ЛУЧ-2" з довжиною хвилі 0,85 мкм, щільністю потоку потужності 20 мВт/см<sup>2</sup> і постійним магнітним полем 25-30 мТл. Тривалість впливу – 15 хв щоденно в проекції кубітальної вени та артерії. Курс лікування – 7 днів.

© Н.Я. Панчишин, Я.І. Гонський – д.м.н., проф.,  
Л.І. Белей, 2000.



**РЕЗУЛЬТАТИ ОБГОВОРЕННЯ.** Виявлено, що в групі хворих на вовчакову нефропатію, які отримували харчовий додаток "Фібрабет" у поєднанні з позасудинним МЛО крові на фоні традиційного лікування, покращання відзначали вже на 6-7 день лікування (після 5-6 сеансів позасудинного МЛО), воно проявлялося зменшенням клінічних проявів нефропатії та іншої симптоматики. Після 4-5 сеансів МЛТ повністю зникали набряки гомілок та стоп, обличчя при наявності їх до початку лікування, значно покращувався загальний стан хворих. Зменшення проявів сечового синдрому супроводжувалося нормалізацією показників лейкоцитурії та еритроцитурії за даними загального аналізу сечі та проби Нечипоренка у 90,6 % пацієнтів даної групи.

Вплив "Фібрабету" в поєднанні з МЛТ на перебіг імунних реакцій при вовчаковій нефропатії наведено в таблиці 1.

Важлива роль токсемії в патогенезі вовчакової нефропатії аргументувала вивчення впливу загальноприйнятої терапії та харчового додатку "Фібрабет" у поєднанні з МЛТ на її

ступінь вираження в обстежених пацієнтів. Отримані дані наведено в таблиці 2.

Застосування позасудинного МЛО крові та харчового додатку з властивостями ентеросорбенту "Фібрабет" у лікувальному комплексі пацієнтів із вовчаковою нефропатією супроводжувалося тенденцією до значної нормалізації досліджуваних величин. Так відзначалася достовірна різниця СМ-254 та ЕІЕІ до та після проведеного комплексного лікування і наближення їх до аналогічних величин у контрольній групі.

У цілому аналіз отриманих даних дозволяє узагальнити, що застосування харчового додатку з властивостями ентеросорбенту "Фібрабет" та МЛО крові в лікувальному комплексі хворих на вовчакову нефропатію супроводжувалося покращанням загальноклінічних і лабораторних проявів патологічного процесу.

**ВИСНОВОК.** Включення в лікувальний комплекс пацієнтів із вовчаковою нефропатією позасудинного опромінювання крові та

Таблиця 1 – Показники імунної реактивності у хворих на СЧВ, лікованих "Фібрабетом" у поєднанні з МЛТ (M±m)

Показники	Контроль (n=20)	Лікування	До лікування	РІ	Після лікування	РІІ	РІІІ
Т-лімф., % – тотальні	52,55±1,24	ЗПТ	43,41±0,87	*	44,42±0,80	*	
		КТ	43,00±1,00	*	43,25±1,65	*	
– ТР-РУК	34,71±1,66	ЗПТ	28,73±0,71	*	30,42±0,47	*	
		КТ	31,17±1,19		31,25±1,31		
– ТЧ-РУК	15,62±0,64	ЗПТ	14,45±0,53		14,25±0,62		
		КТ	11,83±1,42	*	12,00±1,08	*	
В-клітини, %	23,65±1,45	ЗПТ	27,20±2,43		27,42±1,55		
		КТ	20,00±4,62		18,50±5,78		
Ig A, г/л	1,57±0,16	ЗПТ	2,32±0,37		2,05±0,17	*	
		КТ	2,27±0,37		2,10±0,21	*	*
Ig M, г/л	1,39±0,36	ЗПТ	2,68±0,29	*	1,81±0,10		*
		КТ	2,10±0,10		2,00±0,50		*
Ig G, г/л	9,88±1,46	ЗПТ	11,32±0,84		10,61±0,52		
		КТ	10,83±0,47	*	10,37±0,42		

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – достовірність різниці показників (РІ – контрольної групи і групи пацієнтів до лікування; РІІ – контрольної групи і групи пацієнтів після лікування; РІІІ – до та після лікування); ЗПТ – загальноприйнята терапія, КТ – комплексна терапія.

Таблиця 2 – Показники синдрому токсемії у хворих на СЧВ, лікованих "Фібрабетом" у поєднанні з МЛТ (M±m)

Показники	Контроль (n=20)	Лікування	До лікування	РІ	Після лікування	РІІ	РІІІ
СМ-254, ум. од.	176,90±4,54	ЗПТ	476,50±31,84	*	402,80±14,88	*	*
		КТ	431,00±38,46	*	219,80±22,84	*	*
СМ-280, ум. од.	208,40±4,61	ЗПТ	229,20±16,24		209,70±10,99		
		КТ	278,80±60,02		198,40±16,85		
ЕІЕІ, %	27,25±1,12	ЗПТ	42,43±4,33	*	36,40±1,79	*	
		КТ	40,04±1,81	*	32,48±2,15		*



харчового додатку з властивостями ентеросорбенту "Фібрабет" підвищує клінічну ефективність базисної терапії та сприяє підвищенню ефективності стаціонарного етапу

реабілітації за рахунок вираженого позитивного впливу на стан імунітету та суттєвого зменшення рівня токсемії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин М.А., Бех М.Д. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: Методичні рекомендації. – Київ, 1998. – 31 с.

2. Бакалюк О.Й., Гонський Я.І., Панчишин Н.Я. та ін. Ентеросорбент "Фібрабет" в комплексному лікуванні пацієнтів з хронічною нирковою недостатністю // Матеріали XIII Всеукраїнської конференції нефрологів "Хронічна ниркова недостатність": Тези доп. – Харків, 1999. – С. 218-222.

3. Bach F., Hirschorn K. Lymphocyte interaction, a potential histocompatibility test in vitro // *Exptl. Cell. Res.* – 1953. – № 32. – P. 592-598.

4. Mancini G., Carbonare A., Henemans J. Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion // *Immunochemistry.* – 1965. – № 2. – P. 235-539.

## ОБ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ВОЛЧАНОЧНОЙ НЕФРОПАТИИ

Н.Я. Панчишин, Я.И. Гонский, Л.И. Белей

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

Обследовано 70 больных системной красной волчанкой с проявлениями волчаночной нефропатии, которые получали базисную терапию; 30 из них в лечебный комплекс включена внесосудистая магнитолазерная терапия в сочетании с пищевой добавкой со свойствами энтеросорбента "Фибрабет". Установлено, что применение комплексной терапии у больных волчаночной нефропатией повышает клиническую эффективность базисной терапии за счет положительного влияния на состояние иммунитета существенного уменьшения уровня токсемии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: системная красная волчанка, иммунный статус, синдром токсемии, "Фибрабет", магнитолазерная терапия.

## ABOUT RESULTS OF LUPUS NEPHRITIS TREATMENT BY DIFFERENT METHODS OF LUPUS NEPHRITIS

N.Ya. Panchyshyn, Ya.I. Honsky, L.I. Beley

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

#### Summary

70 patients with Systemic Lupus Erythematosus and Lupus Nephritis were examined after traditional therapy; 30 patients were treated with magnetical and laser radiation and food addition "Phybrabet" (they used traditional therapy too). Complex treatment application in patients with Lupus Nephritis was established to raise the clinical effectiveness of traditional therapy with positive influence on immunological status and essential decrease of endogenic intoxication level.

KEY WORDS: Systemic Lupus Erythematosus, immunological status, endogenic intoxication, "Phybrabet", magnetical and laser radiation.

Отримано 30.06.2000 р.



## ЗМІНИ ВМІСТУ МЕТАБОЛІТІВ ГЛІКОЛІЗУ В КРОВІ, ІНКУБОВАНИЙ З ОТРУТОЮ БЛІДОЇ ПОГАНКИ І ПЕНІЦИЛІНОМ

Б.А. Локай

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Вивчено вплив екстракту блідої поганки (БП) на перебіг гліколізу в крові, інкубованій з отрутою БП і натрієвою сіллю бензилпеніциліну (Пен G). Встановлено, що отрута БП знижує рівень глюкози й одночасно збільшує рівень недоокислених метаболітів гліколізу. Використання Пен G сприяє більш економному використанню глюкози і зменшенню рівня недоокислених метаболітів обміну глюкози.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кров людини, отрута блідої поганки, пеніцилін, гліколіз.

**ВСТУП.** Актуальність проблеми гострих отруєнь шапинковими грибами зумовлена зростанням в останні роки кількості осіб, які отруїлися блідою поганкою (БП) [9]. Отрута БП належить до надзвичайно токсичних [1, 3], складається з двох груп: швидкодіючих (фалотоксинів) і повільнодіючих, але у 20 разів отруйніших, аматоксинів. Унікальні властивості аманітинів пригнічувати активність ДНК-залежної РНК-полімерази II і фалотоксинів взаємодіяти з F-актином м'язових і нем'язових клітин еукаріотів в останні роки широко використовують як незамінний "інструмент" у багатьох лабораторіях світу в фундаментальних дослідженнях з молекулярної біології [2].

Важкий клінічний перебіг отруєнь БП зумовлений тим, що її отрута спричиняє глибокі порушення гомеостазу на всіх рівнях організації організму, а також пізньою госпіталізацією, коли хворих приймають у стаціонар з уже вираженою екзоінтоксикацією, нерідко з проявами печінково-ниркової недостатності, які свідчать про період декомпенсації [7]. Відсутність антидотної терапії отруєнь БП зумовлює використання тільки патогенетичних і симптоматичних лікарських середників, серед яких у складі базисної терапії обов'язковим є натрієва сіль бензилпеніциліну (Пен G) [10]. Дані про реакцію клітин крові людини в латентний період отруєнь БП на Пен G в літературі відсутні.

Метою роботи було вивчення впливу Пен G і отрути БП на показники гліколізу крові людини в перші три години їх взаємодії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У дослідах використано клітинно-молекулярну модель отруєнь БП [5]. Досліджували кров донорів,

© Б.А. Локай, 2000.

інкубовану при температурі 37 °С протягом 3 год. Екстракт БП отримували методом [11]. У 1-й серії дослідів визначали вплив строків інкубації на досліджувані показники, у 2-й – вплив екстракту БП у дозі ЛД<sub>50</sub> – на ці ж показники, у 3-й – вплив Пен G у дозі 1 млн ОД/кг, у 4-й – спільний вплив екстракту БП і Пен G у тих же дозах. Концентрацію молочної та піровиноградної кислот (МК, ПВК) визначали з використанням реактивів "Boeringer Mannheim" (ФРН), глюкози та активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) – реактивів "Lachema" (ЧССР). Розрахунки окислювально-відновного потенціалу (ОВП) проводили за рівнянням Нернста, коефіцієнта відновлення піридинових нуклеотидів – застосовуючи константу рівноваги ЛДГ-реакції [6]. Цифровий матеріал піддавали статистичному аналізу.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** При тривалій (протягом 180 хв) інкубації крові донорів спостерігали незначні зміни у початковій і кінцевій фазах гліколізу. Через 1 і 3 год інкубації вміст глюкози зменшився відносно контролю на 13 і 18 % ( $p > 0,05$ ), частка МК зросла на 20 і 25 % ( $p > 0,05$ ), ПВК – зменшилася на 13 % і збільшилася на 2 % ( $p > 0,05$ ), а відношення МК/ПВК становило 135 % ( $p < 0,05$ ) і 124 % ( $p > 0,05$ ). У ті ж строки дослідів активність ЛДГ підвищилась на 25 % ( $p < 0,05$ ) і зменшилась на 12 % ( $p > 0,05$ ). Відношення НАД/НАД · Н<sub>2</sub> складало 70 і 82 %, а ОВП МК/ПВК – 101-102 % ( $p < 0,05$ ) в обидвох випадках стосовно контролю.

Після додавання до крові екстракту БП концентрація глюкози через 1 і 3 год продовжувала зменшуватися і становила тільки 59 і 44 % від вихідного рівня ( $p < 0,001$ ), активність ЛДГ знизилась до 58 і 39 %



Таблиця 1 – Динаміка показників гліколізу в крові, інкубованій з ОБП і Пен G ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Показник і його норма	Умови досліджу	Строк інкубації, хв	
		60	180
Глюкоза, 4,56±0,35 ммоль/л	Контроль	3,98±0,41	3,73±0,38
	ОБП	2,71±0,14****	1,99±0,21*****
	Пен	3,35±0,21**	2,96±0,11****
	ОБП+Пен	3,25±0,06***	2,51±0,12*****
МК, 947,58±84,51 мкмоль/л	Контроль	1134,08±31,83	1181,75±109,19
	ОБП	1502,58±122,71*****	2273,75±81,86***
	Пен	1022,50±57,15**	1343,33±99,74****
	ОБП+Пен	1427,17±126,46***	1519,33±79,28*****
ПВК, 98,73±2,96 мкмоль/л	Контроль	86,08±5,95	100,63±7,30
	ОБП	90,98±13,56	99,23±10,18
	Пен	77,88±9,84	92,93±11,16
	ОБП+Пен	97,40±2,53	90,33±9,60
МК/ПВК, 9,72±1,05	Контроль	13,46±0,90*	12,08±1,47
	ОБП	14,54±2,89**	23,84±1,85*****
	Пен	13,98±1,39*	15,12±1,58**
	ОБП+Пен	14,65±1,21**	18,26±2,80**
ОВП МК/ПВК, -277,89±3,77 мВ	Контроль	-283,44±2,20*	-279,31±3,87
	ОБП	-291,34±5,59**	-300,92±2,29*****
	Пен	-284,14±3,28*	-286,60±3,03**
	ОБП+Пен	-285,91±2,48**	-291,33±4,81**
ЛДГ, 2,15±0,16 ммоль/(год·л)	Контроль	2,68±0,12*	1,90±0,15**
	ОБП	1,56±0,12*****	1,33±0,05*****
	Пен	1,90±0,19	1,62±0,12*
	ОБП+Пен	1,40±0,04*****	1,30±0,10****
НАД/НАД·Н <sub>2</sub> , 984,49±107,89	Контроль	686,72±52,91*	806,82±103,90
	ОБП	571,69±111,51*	388,60±27,63*****
	Пен	682,18±77,68*	625,48±56,62**
	ОБП+Пен	635,19±49,78**	556,80±86,88**

Примітка. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,02$ ; \*\*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\*\* –  $p < 0,002$ ; \*\*\*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з нормою.

$p < 0,001$ ), рівень ПВК майже не змінився (92 і 90 %). Одночасно різко зросла концентрація ІК – в 1,6 і 2,4 рази ( $p < 0,001$ ), відношення ІК/ПВК – в 1,9 ( $p < 0,02$ ) і 2,6 рази ( $p < 0,001$ ), ВП МК/ПВК складав 105 і 108 % ( $p < 0,02-0,001$ ) стосовно контролю.

В умовах сумісної інкубації крові з екстрактом БП і Пен G відзначено, що зрівняно з результатами дії тільки отрути БП, більш економічним є використання глюкози, вень якої зріс на 12 %, а концентрація МК зменшилася на 8 % ( $p < 0,01$ ) і 80 % ( $p < 0,001$ ), ліст ПВК суттєво не змінився, але відношення К/ПВК зменшилося на 40 і 57 % ( $p < 0,002$ ), АД/НАД·Н<sub>2</sub> – зросло на 7 і 18 % ( $p < 0,02$ ), ВП МК/ПВК – на 2 і 3 % ( $p < 0,02$ ).

Аналіз отриманих у досліді з інкубацією крові з екстрактом БП і Пен G даних дав можливість встановити високу кореляційну залежність змін показників глюкози зі змінами метаболітів у крові. Кореляційна залежність між рівнем глюкози, активністю ЛДГ, відношенням НАД/НАД·Н<sub>2</sub> і ОВП МК/ПВК у всіх випадках мала від'ємний характер (від  $r = -0,92$  до  $r = -0,12$ ). Кореляційно-регресивний аналіз є підстави вважати, що основною причиною

змін вуглеводного обміну крові донорів в умовах інкубації з отрутою БП є зниження ефективності окислення глюкози і, як наслідок, збільшення рівня недоокислених метаболітів гліколізу. Наслідком анаеробізації є уповільнення окисного декарбоксілювання піруват-дегідрогеназного комплексу, зокрема ліпоаміддегідрогенази, і включення його в цикл трикарбонових кислот [4]. Ці результати підтверджують дані про цитотоксичну дію отрути БП, яка проявляється в її впливі на синтез внутрішньоклітинних ферментів, прямій інгібуючій дії на активність уже синтезованих ферментів і непрямому впливі на ферментні системи клітин через посередництво субстратів [8].

**ВИСНОВКИ.** 1. Взаємодія отрути блідої поганки з кров'ю людини проявляється гіпоглікемією і збільшенням вмісту недоокислених метаболітів гліколізу.

2. Натрієва сіль бензилпеніциліну сприяє більш ефективному використанню глюкози клітинами крові й, відповідно, активації піруватдегідрогеназного комплексу обміну глюкози.



#### ЛІТЕРАТУРА

1. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 167 с.
2. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л., Чабанный Н.В. и др. Изменения белкового, липидного состава, ДНК- и РНК-полимеразной активности фракций хроматина и ядерного матрикса печени крыс в условиях Е-гиповитаминоза // Укр. биохим. журн. – 1990. – 62, № 6. – С. 22-30.
3. Даниленко В.С., Родионов П.В. Острые отравления растениями. – 3-е изд., – К: Здоров'я, 1986. – 112 с.
4. Кузьменко С.А. Диагностика и лечение отравлений бледной поганкой: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Л., 1980. – 22 с.
5. Кузьменко С., Локай Б. Клітинно-молекулярна модель гострих отруень блідою поганкою // Українська наука: минуле, сучасне, майбутнє. – Тернопіль, Економічна думка, 1998. – С. 220-223.
6. Путилина Ф.Е. Расчет коэффициента пиримидиновых нуклеотидов в цитоплазме // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
7. Саркисов Д.С. О взаимоотношении структурных и функциональных изменений в бессимптомные периоды болезни // Клин. медицина. – 1980. – № 7. – С. 9-18.
8. Трещинский А.И. Некоторые ферментативные процессы в печени и крови при действии токсинов бледной поганки // Розанов А.Я., Трещинский А.И., Хмелевский Ю.В. Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях. – К.: Здоров'я, 1985. – С. 188-189.
9. Циганенко О.І., Матасар І.Т., Григор'єва Л.І. // Матеріали про грибі отруєння серед населення України. – Київ, 1997. – 100 с.
10. Monhart V. Amanita poisoning and the importance of sorption hemoperfusion in its therapy // Vnitř. Lek. – 1997. – 43, № 10. – P. 686-690.
11. Wieland T., Wieland O. Chemistry and toxicology of the toxins of Amanita phalloides // Pharmacol. Rev. – 1959. – № 11. – P. 87-107.

### ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МЕТАБОЛИТОВ ГЛИКОЛИЗА В КРОВИ, ИНКУБИРОВАННОЙ С ЯДОМ БЛЕДНОЙ ПОГАНКИ И ПЕНИЦИЛЛИНОМ

Б.А. Локай

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

Изучено влияние экстракта бледной поганки (БП) на протекание гликолиза в крови, инкубированной с ядом БП и натриевой солью бензилпенициллина (Пен G). Обнаружено, что яд БП снижает уровень глюкозы и, одновременно, повышает уровень недоокисленных метаболитов гликолиза. Использование Пен G благоприятствует экономному использованию глюкозы и уменьшению уровня недоокисленных метаболитов обмена глюкозы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кровь человека, яд бледной поганки, пенициллин, гликолиз.

### CHANGES OF CONTENTS OF GLYCOLYSIS METABOLITES IN BLOOD, INCUBATED WITH AMANITA PHALLOIDES POISON AND PENICILLIN-G

B.A. Lokai

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

#### Summary

The influence of Amanita phalloides extract on glycolysis course in blood, incubated with Amanita phalloides poison and penicillin-G has been studied. It was revealed that the Amanita phalloides poison reduces application glucose level and, simultaneously, rises level of not-fully-oxidized metabolites of a glycolysis. Application of Penicillin-G favours to more economical glucose usage and to decrease of not-fully-oxidized metabolites level of glycolysis.

KEY WORDS: human blood, Amanita phalloides poison, Penicillium, glycolysis.

Отримано 6.05.2000 р.



## СТАН ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМИ ТА ОКИСЛЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ

Я.Г. Іванушко

ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА

*Вивчали вплив лазерного опромінення на стан фібринолітичної системи, пероксидного окислення ліпідів та морфологію печінки щурів. Встановили зниження активності фібринолітичної системи на фоні активації пероксидного окислення ліпідів на 10-й день після опромінення. Морфологічна картина характеризувалась неспецифічними змінами гепатоцитів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фібриноліз, пероксидне окислення ліпідів, морфологія, печінка, лазер.

**ВСТУП.** Фібриноліз розглядають як фундаментальний процес, що відіграє важливу роль у фізіології і патології організму [1, 5]. За умов норми активуюча й інгібуюча функції фібринолітичної системи знаходяться в динамічній рівновазі. У постійній взаємодії компонентів, що забезпечують активну фазу фібринолізу, з інгібіторами цього процесу, знаходить свій відбиток один з основних принципів організації системи – принцип саморегуляції.

Печінка відіграє головну роль у регуляції фібринолізу. В судинах печінки щурів виявлено високий вміст активатора плазміногена. Наявність великої кількості інгібіторів у печінці маскує її високу судинну фібринолітичну активність. Найбільш висока фібринолітична активність (ФА) у печінковій артерії і портальної області (активатор знаходиться в стінках судин, ФА органа залежить від васкуляризації), особливо у венах і венулах. У лімінах активатор локалізується в лізосомах [10]. Послаблення фібринолізу викликає відкладення фібрину [2].

Лазерне опромінення має дозозалежний вплив на судини, фібринолітичну активність [8] пероксидне окислення ліпідів [7] у крові.

Мета даного дослідження – комплексна оцінка функції печінки (пероксидного окислення ліпідів, тканинного фібринолізу, морфології) під впливом гелій-неонового лазерного опромінення (ГНЛ).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводились на 36 білих нелінійних щурах-

Я.Г. Іванушко, 2000.

самцях масою 110-180 г. Лазерне опромінення проводили через шкіру на ділянку печінки по 60 с протягом 10 днів апаратом "ЛГН-207-А". Декапітували тварин під ефірним наркозом на 10-й день (група 1) і через 10 днів (група 2) після опромінення. Печінку заморожували в рідкому азоті. У гомогенаті печінки визначали концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) [4], малонового діальдегіду (МДА) [9], сумарну (СФА), ферментативну (ФФА) і неферментативну (НФА) фібринолітичну активність [6]. Білок у печінці визначали за Лоурі [11]. Гістоензимохімічним методом визначали активність сукцинатдегідрогенази, кислотої лужної фосфатази [3]. Використовували такі гістологічні методики, як забарвлення гематоксиліном та еозином, PAS-реакцію на наявність нейтральних глікозамінгліканів та забарвлення сполучної тканини за Н.З. Слінченком.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Опромінення "ЛГН" протягом 10 днів призводило до явищ зернистої дистрофії печінкових клітин переважно центру часток. У гепатоцитах периферії, а також частини гепатоцитів центру часток, відзначали гідропічну дистрофію, некроз окремих гепатоцитів. Спостерігали розширення просторів Діссе, повнокрів'я вен портальних трактів, лімфоцитарну інфільтрацію строматальних трактів, проліферацію клітин Купфера і жирову дистрофію окремих гепатоцитів. Активність сукцинатдегідрогенази і кислотої фосфатази в гепатоцитах була підвищеною. Фібринолітична активність практично не змінювалась (табл. 1). Показники



Таблиця 1 – Фібринолітична активність ( $E_{440}/г \cdot год$ ) у печінці білих щурів на тлі опромінення гелій-неоновим лазером ( $M \pm m; n=6$ )

Показник фібринолітичної активності	Контроль	Група 1	Група 2
СФА	106,65±10,85	105,25±11,28	86,62±12,6
НФА	18,16±3,14	20,36±2,60	20,56±5,58
ФФА	88,49±9,21	84,88±11,80	66,06±15,82

роксидного окиснення ліпідів також мало різнились від контрольних. Спостерігалась тенденція до зниження рівня ДК (рис. 1).

Через 10 днів після опромінення зберігались явища лімфоцитарної інфільтрації по ходу іад та дистрофія, яка посилювалась на риферії печінкової частки (гідропічна дистрофія з некрозом окремих гепатоцитів). Діагностували розширення просторів Діссе і гіпертрофію окремих гепатоцитів. PAS-реакція була посиленою в ділянці триад. Активність сліої фосфатази залишалась підвищеною. Спостерігалась високою активністю сукцинатдегідрогенази в центролобулярних гепатоцитах. Звертало на себе увагу зниження фібринолітичної активності в печінці. Зниження СФА і НФА (табл. 1) збігалось з підвищеним рівнем пероксидного окиснення ліпідів (рис. 1).

Таким чином, лазерне опромінення викликало венозний стаз і лабілізацію мембран

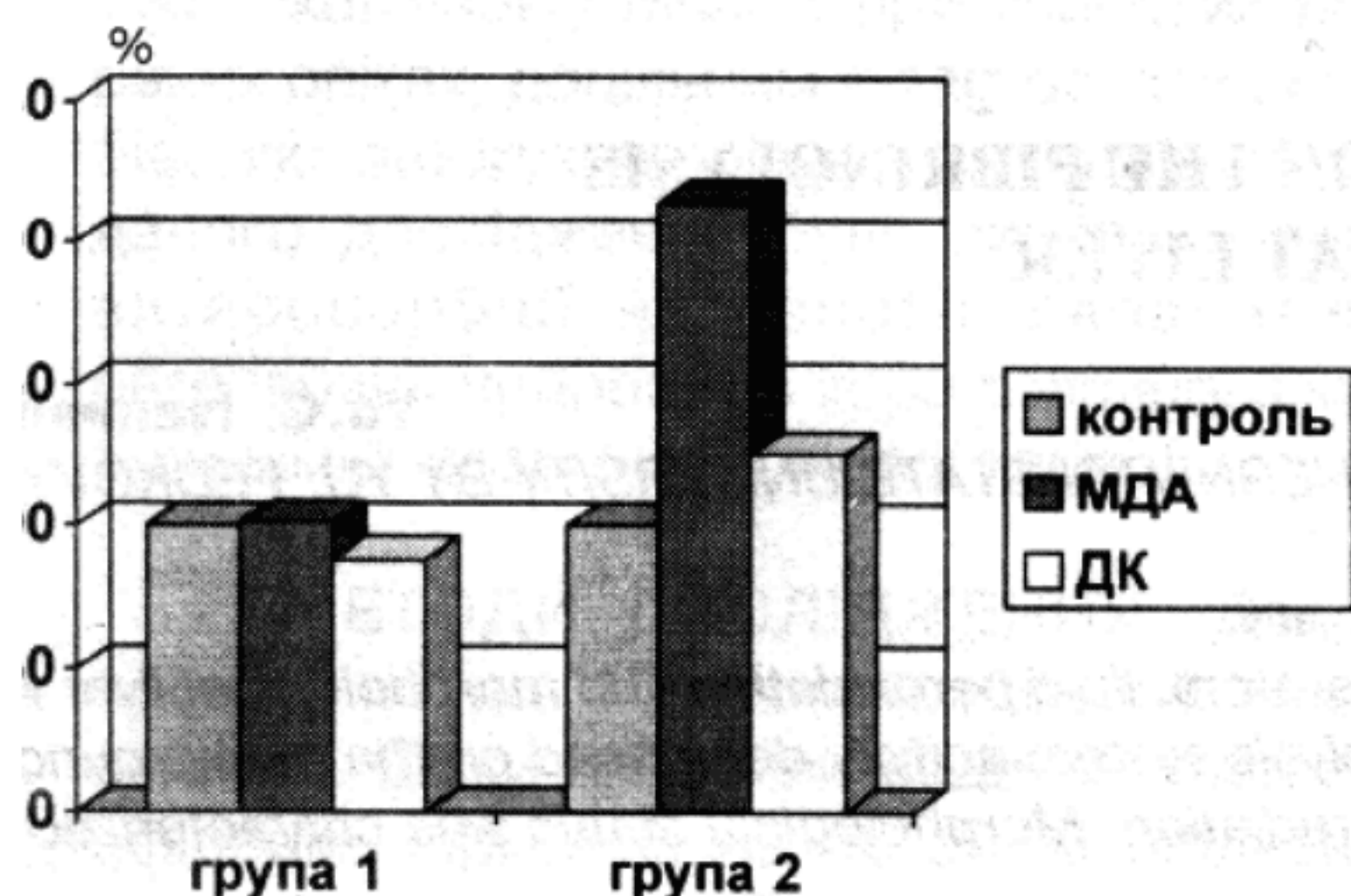


Рис. 1. Пероксидне окиснення ліпідів у печінці щурів на тлі опромінення гелій-неоновим лазером (%).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Андреев Г.В. Фибринолиз. – М.: Изд-во Моск. университета, 1979. – 352 с.
2. Андреев Г.В. Фибринолиз // Биохимия животных и человека. Респ. межвед. сб. – К.: Наук. думка, 1982. – Вып. 6. – С. 84-94.
3. Берстон М. Гистохимия ферментов: Пер. с англ. – М.: Мир, 1965. – 464 с.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания дигидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-36.

лізосом, про що свідчить підвищення активності КФ. Обидва процеси стимулюють фібринолітичну активність [1], чого ми не спостерігали безпосередньо після закінчення курсу опромінення. Зміни в печінці через 10 днів після опромінення характеризували, з одного боку, посилення дистрофічних процесів, з іншого – регенераторних (гіпертрофія окремих гепатоцитів). Вірогідно, що зміни фібринолітичної активності на тлі цих процесів пов'язані з її посиленням використанням на знищення фібрину, що утворюється. Іншим механізмом зниження активності фібринолітичної системи може бути активація інгібіторної системи, якою так багата печінка [2], під впливом лазерного опромінення. Певну роль може відігравати і підвищений рівень пероксидного окиснення ліпідів.

Такий напрямок змін у печінці може призвести до розвитку сполучної тканини, якщо активність фібринолітичної системи залишиться низькою.

**ВИСНОВКИ.** 1. Опромінення гелій-неоновим лазером викликало неспецифічні зміни гепатоцитів, більш виразні через 10 днів після опромінення.

2. Через 10 днів після опромінення спостерігають зниження активності фібринолітичної системи на фоні підвищеного рівня пероксидного окиснення ліпідів. Збереження цієї тенденції може набувати пошкоджуючої дії, сприяти розвитку сполучної тканини в печінці.

5. Грицюк А.И. Фибринолитическая система крови и методы ее лабораторного исследования. – К.: Здоров'я, 1969. – 160 с.

6. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-мессенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Одеса, 1996. – 260 с.

7. Поважная Е.С., Сокрыт В.Н., Зинкович И.И. и др. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на состояние перекисного окисления липи-



дов в крови // Применение лазеров в медицине и биологии. III Научно-практич. конф. – Ялта, 1994. – С. 27-28.

8. Прохончукова А.А. Жижина Н.А. Лазеры в стоматологии. – М.: Медицина, 1986. – 174 с.

9. Стальная И.Д. Гавришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

10. Beard E.I., Montuori M.H., Danos G.F. Plasminogen activator activity of Rat Lysosomes. // Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med. – 1968. – 129, № 3. – P. 804-808.

11. Lowry O.H., Rosebrought N.I., Farr A.L., Randall R.I. Protein measurement with the Folin Phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – 193, № 1. – P. 265-275.

## СОСТОЯНИЕ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Я.Г. Иванушко

ЧЕРНОВИЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ЮРИЯ ФЕДЬКОВИЧА

### Резюме

Изучали влияние лазерного облучения на состояние фибринолитической системы, перексидного окисления липидов и на морфологию печени крыс. Установили понижение активности фибринолитической системы на фоне активации перексидного окисления липидов на 10-й день после облучения. Морфологическая картина характеризовалась неспецифическими изменениями гепатоцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фибринолиз, перексидное окисление липидов, морфология, печень, лазер.

## THE INFLUENCE OF LASER RADIATION ON THE FIBRINOLYSIS SYSTEM AND LIPID PEROXIDATION OF RAT LIVER

Ya.G. Ivanushko

CHERNIVTSI STATE UNIVERSITY BY YU. FEDKOVYCH

### Summary

The influence of laser radiation on the fibrinolysis system, lipid peroxidation and morphology of liver was studied by the experiments on rats. As the result fibrinolysis system activity decreased on the background of lipid peroxidation activation on the tenth day after the radiation. Morphological status was characterized by nonspecific changes of hepatocytes.

KEY WORDS: laser, liver, morphology, fibrinolysis, lipid peroxidation.

Отримано 20.06.2000 р.

ДЛЯ ОТРИМАННЯ ОПЕРАТИВНОЇ ІНФОРМАЦІЇ ЗВЕРТАЙТЕСЯ ДО НАШОЇ  
СТОРІНКИ В ІНТЕРНЕТІ:

[HTTP://WWW.TDMA.SSFT.TERNOPI.LUA/JOURNALS](http://www.tdma.ssft.ternopil.ua/journals)



## ВПЛИВ ЕНТЕРОСГЕЛЮ НА ВНУТРІШНЬОКЛІТИННУ РЕГЕНЕРАЦІЮ НЕЙРОНІВ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ТЯЖКІЙ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ

Т.І. Чернишенко

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Експериментально вивчено особливості внутрішньоклітинної регенерації нейронів кори головного мозку при термічній травмі та застосуванні ентеросорбенту ентеросгелю. Електронномікроскопічно виявлено, що сорбційна детоксикація активує внутрішньоклітинну репаративну регенерацію, сприяє нормалізації структури нейроцитів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кора головного мозку, нейрон, опікова травма, регенерація, ентеросгель.

**ВСТУП.** Літературні дані й раніше проведені дослідження свідчать про те, що важка термічна травма викликає глибокі деструктивні зміни в органах нервової системи [2]. Виражена екзо- й ендогенна інтоксикація значно пригнічує внутрішньоклітинні регенераторні процеси в усіх клітинах, у тому числі в нейроцитах, що призводить до порушення їх морфо-функціонального стану і навіть до загибелі. Враховуючи те, що регенерацію нервових клітин необхідно вивчати на субмікроскопічному рівні й при глибоких поширених опіках, доцільним є застосування засобів, які знижують рівень токсинів. Метою даного дослідження було вивчення впливу ентеросорбції на перебіг репаративної регенерації нейроцитів кори головного мозку в динаміці розвитку опікової хвороби.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проведено на 40 статевозрілих морських свинках. Опіки наносили водяною парою під ефірним наркозом на 18-20 % епільованої поверхні тіла тварин. Гістологічні дослідження шкіри свідчать про розвиток опіку IIIA-IIIБ ступенів. Піддослідні тварини було поділено на три групи: 1-а – інтактні морські свинки, 2-а – тварини з опіковою травмою (контрольна), 3-я – тварини з опіковою травмою, які отримували ентеросорбент ентеросгель у дозі 1 г/кг маси тіла щоденно протягом 14 днів.

Для проведення електронномікроскопічних досліджень тварин декапітували за допомогою гільйотини на 7, 14 і 21 добу, що відповідає стадіям ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби. Одночасно забирали матеріал від 2-3 інтактних тварин. Маленькі шматочки тканини сенсорної зони кори великих півкуль фіксували у 2,5-3,0 % розчині глютаральдегіду, постфіксу-

вали в 1 % розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері, зневоднювали в спиртах та ацетоні й заливали в епоксидні смоли. Ультратонкі зрізи виготовляли на мікротомі "УМТП-7", контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі "ЕМВ-100ЛМ" [3]. Для оцінки рівня ендогенної інтоксикації неспецифічну токсичність плазми крові визначали за вмістом молекул пептидів середньої маси і їх фракцій на спектрофотометрі "СФ-46" [1].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У стадії ранньої токсемії (7 доба дослідження) на фоні підвищення в 1,8 рази токсичності плазми крові в нервових клітинах кори головного мозку встановлено пошкодження мембранних компонентів, периферійний тигроліз, який супроводжувався розширенням каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, зменшенням кількості рибосом та полісом. Спостерігались також набухання і редукція крист більшості мітохондрій. Але в цей період деструктивні зміни мали зворотний характер.

Підвищене функціональне напруження, збереження високої концентрації токсичних продуктів у стадіях пізньої токсемії та септикотоксемії (14 та 21 доба дослідження) погіршували ультраструктуру нейроцитів сенсорної зони кори, викликали деструкцію плазматичних, ядерних і органоїдних мембран. Це пригнічувало внутрішньоклітинну репаративну регенерацію і призводило до незворотних змін.

Ентеросорбент ентеросгель запобігав пошкодженню мікроциркуляторного русла при опіках: кровонаповнення капілярів було меншим, у цитоплазмі ендотеліоцитів виявлялось багато піноцитозних пухирців, а на люменальній поверхні – численних мікроворсинок. Потовщення базального шару та розширення перикапілярних просторів у нервовій тканині



досягали таких розмірів, як за умов опікової травми без ентеросорбції. Краща структурна організація гемокапілярів та стабілізація гістоцитарних бар'єрів забезпечували добре збереження нервової тканини мозку, а отже, й створювали сприятливі умови для активного перебігу процесів регенерації. Так, на 7-14 добу досліджувані тварини в нервових клітинах лікованих тварин були виражені, помірними були розширення цитоплазми, збільшення гранулярної ендоплазматичної сітки, фрагментація та дегрануляція мембран. Також виявляли ознаки гіпертрофії та гіперплазії мітохондрій при помірному збереженні мітохондріального ДНК. Гіпертрофія та ектопія ядерця, збільшена кількість рибосомальних гранул у цитоплазмі, чітка структурна організація ядерного порів свідчили про підвищену активність процесів регенерації нейронів. Активний перебіг внутрішньо-

клітинної регенерації сприяв тому, що на 21 добу спостерігалась помітна нормалізація субмікроскопічної організації багатьох нервових клітин. Це відбувалося на фоні значного зниження токсичності плазми крові. Концентрація молекул середньої маси в крові тварин, які отримували ентеросгель, на 14-21 добу в була 1,3 раза нижчою, ніж у контрольній групі.

**ВИСНОВОК.** Застосування ентеросорбенту ентеросгелю при тяжкій термічній травмі зменшує токсичність плазми крові, запобігає пошкодженню плазматичних, ядерних та органодних мембран нейроцитів, активує в них внутрішньоклітинну репаративну регенерацію. Це значно покращує морфо-функціональний стан нервових клітин кори головного мозку.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Габриэлян Н.И., Дмитриев А.А., Кулаков Г.П. Клиническая ценность определения СМ в плазме крови при нефрологических заболеваниях // Вестн. мед. науки. – 1981. – № 10. – С. 38-42.

2. Кузин М.И., Сологуб В.К., Саркисов Д.С. Итоги и перспективы лечения тяжелообожженных // Хирургия. – 1978. – № 2. – С. 148-151.

3. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М.: Мир, 1975. – 324 с.

## ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРОСГЕЛЯ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ

Т.И. Чернышенко

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

Экспериментально изучено особенность внутриклеточной регенерации нейронов коры головного мозга при термической травме и применении энтеросорбента энтеросгеля. Электронномикроскопически установлено, что сорбционная детоксикация активизирует внутриклеточную репаративную регенерацию, способствует нормализации структуры нейроцитов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** кора головного мозга, нейрон, ожоговая травма, регенерация.

## ENTEROSGEL INFLUENCE ON INTRACELLULAR REGENERATION OF CEREBRAL CORTEX NEURONS IN SEVERE BURN INJURY

T.I. Chernyshenko

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

#### Summary

The peculiarity of cerebral cortex neurons intracellular regeneration has been studied in experiment in severe burn injury and enterosorbent enterosgel application. By means of electronmicroscopic investigations revealed that sorption detoxication activated intracellular regenerative processes, promotes normalization of neurons structure.

**KEY WORDS:** cerebral cortex, neuron, burn injury, regeneration, enterosgel.

Отримано 10.08.2000 р.



## ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕРАПІЇ ТА МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ ОСІБ ІЗ ХВОРОБАМИ ОПЕРОВАНОГО ШЛУНКА

І.М. Григус

РІВНЕНСЬКИЙ БАЗОВИЙ МЕДИЧНИЙ КОЛЕДЖ

Обстежено і проведено терапію та медикаментозну реабілітацію 120 осіб у віддалені терміни після різних видів операцій з приводу ускладненої виразкової хвороби шлунка (ВХШ), дванадцятипалої кишки (ДПК), асоційованої із *Helicobacter pylori*. Медикаментозну корекцію та реабілітацію постваготомічних рецидивних виразок (ПВРВ) проводили відомим способом (тетрациклін, ранітидин, де-нол, фуразолідон) і запропонованим способом (етоній, тетрациклін, ранітидин, де-нол). Проаналізувавши найближчі та віддалені результати лікування можна зробити висновок, що найбільш ефективною є квадротерапія із застосуванням етонію. Реабілітація хворих із демпінг-синдромом із включенням етонію була ефективнішою, ніж традиційні підходи.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хвороби оперованого шлунка, лікування, етоній, тетрациклін, де-нол, ранітидин, фуразолідон.

**ВСТУП.** Резекція шлунка (РШ) є найбільш надійним і розповсюдженим методом хірургічного лікування ВХШ та ДПК. Однак післяопераційні анатомо-фізіологічні взаємозв'язки залоз травлення сприяють виникненню якісно нових форм захворювань оперованого шлунка, які можуть у багатьох випадках мати тяжкий перебіг. РШ за Більрот-II в модифікації Гофмейстер-Фінестерера, при якій, крім вимушеної втрати частини шлунка, настає одностороннє виключення із травлення ДПК, вносить важкі зміни у фізіологію цих органів. При цьому порушується пасаж їжі, обмін вуглеводів, пригнічується зовнішньо-секреторна функція підшлункової залози. Інвалідами II групи після ваготомій у перший рік після операції визнаються 2,2 % хворих і III групи – 4,8 %. Однак ці показники можна знизити, використовуючи в післяопераційний період ефективніші методи лікування. В одних випадках скорочення відновлювального періоду після операцій при ВХ можна досягти призначенням комплексної терапії як у ранні, так і віддалені терміни після операції з метою профілактики ускладнень, в інших – проведенням коригувальної терапії при перших ознаках розвитку різних функціональних ускладнень.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено і проведено терапію та медикаментозну реабілітацію 120 осіб у віддалені терміни після різних видів операцій із приводу ускладненої ВХШ, ДПК, асоційованої з *Helicobacter pylori* (Hр).

© І.М. Григус, 2000.

Чоловіків було 56 (85 %), жінок – 14 (15 %). Вік хворих – від 17 до 75 років. За об'ємом проведеної резекції обстежені хворі були розподілені таким чином: резекцію 1/2 шлунка виконано в 16 хворих, 2/3 шлунка – у 52, субтотальна – у 2.

Крім загальноприйнятих методів дослідження, визначали перетравлювальну активність шлункового вмісту, пепсиноген крові, уропепсин [4], рівень ацетилхоліну (АХ) [5], активність холінестерази (АХЕ) крові [6], рівень катехоламінів у сечі [1], записували ЕГГ [3] та МГГ [2].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати лабораторних досліджень наведено в таблиці 1. Проведені дослідження секреторної функції кукси шлунка в обстежених хворих у різні терміни після операції показали, що резекція за методом Більрот-II викликала пригнічення кислототвірної функції шлунка у 48 прооперованих пацієнтів. Дослідження секреторної та моторної функцій кукси шлунка показали, що виражені диспептичні розлади та клінічні прояви пострезекційних функціональних ускладнень головним чином спостерігались у хворих при поєднанні ахлоргідрії або високих показників кислотності з розладами моторно-евакуаторної функції кукси. При підвищеній реактивності симпатoadреналової системи ДС може перебігати за типом симпато-адреналового кризу і супроводжуватись підвищенням екскреції із сечею адреналіну (А) і норадреналіну (НА). При зниженій – більш важко за типом ваготонічного



изу і супроводжуватись зменшенням витення із сечею А і НА. При ДС, який перебігав типом ваготонічного кризу, найефективними препаратами були белоїд і супрастин, в загальноприйнятих дозах, етоній.

Розроблено і запропоновано композицію посіб) для лікування постваготомічних рецидивних виразок (ПВРВ): тетрациклін, етоній, ранітидин, де-нол. Для клінічної оцінки ефективності лікування хворі з ПВРВ були поділені на 4 групи. Перша група хворих із ЗРВ шлунка (n=10) отримувала: 1) тетрациклін – 500 мг 4 рази на день; 2) етоній – 10 мг 3 рази на день; 3) ранітидин – 150 мг 2 рази на день; 4) де-нол – 120 мг 3 рази на день за 30 хв до їди і додатково зрошення виразки через ендоскоп та електрофорез з 25 % розчином етонію на епігастральну плянку. Другу групу хворих із ПВРВ шлунка (n=10) лікували відомим способом: 1) тетрациклін; 2) ранітидин; 3) де-нол; 4) фуралідон – 100 мг 4 рази на день. Третя група хворих із ПВРВ ДПК (n=15) отримувала запропоновану нами композицію. Четверту групу хворих із ПВРВ ДПК (n=15) лікували відомим способом. При застосуванні запропонованої композиції у першій групі хворих на фоні напівліжкового режиму та дієти суб'єктивні та об'єктивні клінічні прояви захворювання зникли на (5,2±0,2) день (p<0,05),

епітелізація виразок настала на (24,6±0,1) день (p<0,05). Частоту ерадикації слизової оболонки (СО) від Нр встановлено у 86,2 % пацієнтів. При застосуванні запропонованої композиції у третьої групи хворих (n=15) із ПВРВ ДПК суб'єктивні та об'єктивні клінічні прояви захворювання зникли на (4,2±0,1) день, епітелізація виразки настала на (19,3±0,1) день. Частоту ерадикації Нр зі СО встановлено в 86,6 % обстежених. При застосуванні відомого способу лікування у другій групі хворих на фоні напівліжкового режиму та дієти суб'єктивні та об'єктивні клінічні прояви захворювання зникли на (5,0±0,3) день; епітелізація виразки настала на (25,8±0,3) день у (83,4±3,2) % хворих. Частота ерадикації Нр зі СО становила 87,2 % (p<0,05). У четвертій групі хворих на фоні напівліжкового режиму та дієти суб'єктивні та об'єктивні клінічні прояви захворювання зникли на (5,2±0,3) день, епітелізація виразки настала на (22,4±0,2) день. Частота ерадикації Нр зі СО склала 85,2 %.

**ВИСНОВОК.** У лікуванні хворих із постваготомічними рецидивними виразками та демпінг-синдромом, асоційованими з Нр, доцільно застосовувати етоній у комплексній протигелікобактерній терапії, як протимікробний засіб і стимулятор регенерації слизової оболонки.

Таблиця 1 – Результати лабораторних досліджень у хворих з демпінг-синдромом

Група хворих	n	Годинна напруга секреції натще, мл	Кислотно-твірна функція, ммоль	Уропепсин, мг/год	Білірубін крові, мкмоль/л	АлСТ, ммоль/(л·год)	АлЛТ, ммоль/(л·год)
Здорові особи (контроль)	10	78,0±48,0	1,9±1,4	3,0±0,1	4,7±0,1	0,35±0,01	0,58±0,01
Демпінг-синдром легкого ступеня	29	8,0±0,1	0,50±0,01	0,30±0,01	28,0±0,1	0,76±0,02	1,42±0,02
Демпінг-синдром середнього ступеня	20	8,0±0,1	0,30±0,02	0,30±0,01	28,0±0,1	0,89±0,02	1,80±0,40
Демпінг-синдром важкого ступеня	10	6,0±0,1	0,20±0,01	0,30±0,01	42,0±0,1	1,20±0,03	2,20±0,30

Продовження табл. 1

Групи хворих	n	Загальний білок крові, г/л	Активність холінестерази, хв	ДОФА, нмоль/добу	ДОФА-амін, нмоль/добу	Нор-адреналін, нмоль/добу	Адреналін, нмоль/добу
Здорові особи (контроль)	10	67,10±0,02	14,0±0,1	280,0±5,2	1640,0±20,0	149,0±1,7	35,8±4,2
Демпінг-синдром легкого ступеня	29	57,00±0,02	26,0±0,2	360,0±10,7	1642,0±20,0	182,0±1,7	45,4±4,0
Демпінг-синдром середнього ступеня	20	56,00±0,02	28,0±0,4	382,0±10,8	1740,0±32,0	192,0±7,7	47,2±6,0
Демпінг-синдром важкого ступеня	10	54,00±0,02	32,0±0,4	180,0±8,6	1542,0±142,0	120,0±26,0	25,8±3,2



#### ЛІТЕРАТУРА

1. Матлина Э.Ш. Обмен катехоламинов в гормональных и медиаторных звеньях симпатoadrenalной системы при стрессе // Успехи физиол. науки. – 1972. – 3, № 4. – С. 92-130.
2. Матросова М.А. Двигательная деятельность желудка и ее связь с секрецией желудочного сока. – Л.: Наука, 1964. – 165 с.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Л.: Медицина. 1993. – 2. – С. 410.
4. Собакин М.А. Физические поля желудка. – Новосибирск: Наука. – 1978. – 110 с.
5. Hestrin S. The reaction of Acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with Hydroxylamine and its analytical application // J. Biochem. – 1949. – 180. – P. 249-255.
6. Herzfeld E., Stumpf Ch. Ein neuer Kurztest zur Bestimmung der Serumcholinesterase aktivitat // Wien. Klin. Wsch. – 1995. – 67. – S. 874-879.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ И МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ЛИЦ С БОЛЕЗНЯМИ ОПЕРИРОВАННОГО ЖЕЛУДКА

И.М. Григус

РОВЕНСКИЙ БАЗОВЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЛЕДЖ

#### Резюме

Обследовано и проведено терапию и медикаментозную реабилитацию 120 лиц в отдаленные сроки после различных видов операции по поводу осложненной язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori*. Медикаментозную коррекцию и реабилитацию постваготомических рецидивных язв (ПВРЯ) проводили известным способом (тетрациклин, ранитидин, де-нол, фуразолидон) и предложенным способом (этоний, тетрациклин, ранитидин, де-нол). После проведенного анализа ближайших и отдаленных результатов лечения с использованием основных критериев можно сделать вывод, что наиболее эффективной является терапия с применением этония. Реабилитация больных с демпинг-синдромом с включением этония была более эффективной, чем традиционные подходы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезни оперированного желудка, лечение, этоний, тетрациклин, де-нол, ранитидин, фуразолидон.

## EFFICACY OF THERAPY AND MEDICAMENTOUS REHABILITATION OF THE PATIENTS WITH OPERATED STOMACH DISEASES

I.M. Grygus

RIVNE BASIC MEDICAL COLLEGE

#### Summary

There were observed in the late postoperative period 120 patients after various kinds of operations for complicated ulcerative disease of the stomach and duodenum associated with *Helicobacter pylori*. Medicamentous correction and rehabilitation of the postvagotomic relapsing ulcers were carried out whilst using traditional therapy by tetracycline, ranitidine, de-nol and furazolidon and the suggested one by aethonii, tetracycline, ranitidine and de-nol composition.

Having analyzed the nearest and the further therapy findings with application of the main criteria we can conclude that the most effective is quadrotherapy in combination with aethonii.

Rehabilitation of the patients with dumping syndrome was more effective with using aethonii than traditional therapy.

KEY WORDS: the operated stomach diseases, therapy, aethonii, tetracycline, de-nol, ranitidine, furazolidon.

Отримано 4.07.2000 р.



## ДИНАМІКА ЗАГАЛЬНОКЛІНІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ В ПРОЦЕСІ РОЗВАНТАЖУВАЛЬНО-ДІЄТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

Л.В. Радецька, Ю.І. Сливка

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Застосовано метод розвантажувально-дієтичної терапії (РДТ) у 62 хворих на ішемічну хворобу серця (стабільна стенокардія напруги I, II, III ФК). Показано, що в процесі лікування достовірно збільшуються вміст еритроцитів, гемоглобіну та кольоровий показник. При аналізі динаміки біохімічних показників було виявлено тенденцію до підвищення активності амінотрансфераз, вмісту білірубину в крові, величини яких нормалізувались до кінця курсу РДТ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: розвантажувально-дієтична терапія, ішемічна хвороба серця.

**ВСТУП.** Досвід ряду країн свідчить про те, що наявні тенденції зниження захворюваності та смертності від ішемічної хвороби серця значною мірою асоціюються зі зміною структури харчування населення та дієтичною модифікацією факторів ризику [2]. Масштаб проблеми, частий розвиток побічних явищ при фармакокорекції ІХС потребують більш широкого використання немедикаментозних методів впливу на цю патологію, перш за все розвантажувально-дієтичної терапії (РДТ).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліджували 62 хворих на ІХС віком від 36 до 63 років. Стабільну стенокардію напруги I ФК виявили у 26 пацієнтів (1-а група), стабільну стенокардію II ФК – у 32, стабільну стенокардію III ФК – у 4 (2-а група). Контрольну групу становили 20 практично здорових осіб віком 6-58 років.

РДТ проводили за загальноприйнятою методикою [1]. Розвантажувальний період тривав 14-24 дні. Стільки ж часу тривав курс відновного харчування.

Основні загальноклінічні та біохімічні показники крові визначали за загальноприйнятими методиками.

Обстеження проводили до РДТ, на 7-10 день розвантажувального та в кінці відновного періодів. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики.

**РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ.** У процесі розвантажувального періоду організм переходить з екзогенного харчування на ендogenous.

Об'єктивним свідченням оптимізації енергетичної адаптації до ендogenous харчування є динаміка показників червоної крові в процесі РДТ (табл. 1). До лікування виражених відхилень середньостатистичних величин вивчених показників не було. У кінці розвантажувального періоду достовірно збільшувались вміст еритроцитів, гемоглобіну та кольоровий показник. Еритроцитоз має адаптаційний характер у зв'язку з переходом організму під час РДТ на жировий тип обміну, що вимагає значно більшої кількості кисню, ніж вуглеводний. Можна вважати, що виявлене підвищення вмісту еритроцитів та гемоглобіну в крові хворих у процесі РДТ є наслідком згущення крові, адже в розвантажувальний період відбувається втрата води тканинами. Поряд із цим, можливо, внаслідок детоксикаційної дії РДТ [1], відбувається посилення гемопоезу.

На 7-10 день розвантажувального періоду відзначали зростання кількості лімфоцитів ( $p < 0,05$ ), що свідчило про стресорну дію РДТ на організм, а кількість сегментоядерних нейтрофілів і еозинофілів зменшувалася ( $p < 0,05$ ). На момент виписування із стаціонару лейкоцитарна формула відповідала нормі, що свідчило про вихід організму зі стресового стану.

Аналізуючи динаміку дослідження біохімічних показників, ми виявили, що вміст загального білка в крові в процесі РДТ був стабільним, що свідчило про надійність функціональної системи, яка забезпечує обмін білків в організмі. Активність АЛАТ і АСАТ мала тенденцію до підвищення на 7-10 день розвантажувального періоду, порівняно з



початком лікування. Дані літератури свідчать про підвищення активності амінотрансфераз при екстремальних впливах, які викликають напругу білкового обміну в організмі, що дає підстави розглядати його як адаптативно доцільне [1].

У процесі РДТ у 27,6 % хворих в розвантажувальний період відзначали тенденцію до підвищення вмісту загального білірубину, переважно за рахунок непрямой фракції

( $p > 0,05$ ). Можливо, це є наслідком збільшення продукції білірубину [1]. В кінці лікування середні величини загального білірубину відповідали початковим.

Середньостатистичні показники вмісту сечовини та креатиніну у сироватці крові всіх хворих у різні періоди РДТ залишались в межах норми. При аналізі індивідуальних показників на початку лікування підвищений вміст сечовини виявлено лише у 5,8 % хворих, на 7-10

Таблиця 1 – Динаміка показників загального аналізу крові у хворих на ІХС у процесі РДТ ( $M \pm m$ )

Показник	Еритроцити $\times 10^{12}/л$	Гемоглобін, г/л	КП	Лейкоцити, $\times 10^{12}/л$	Еозинофіли, %
Контрольна група (n=20)					
	3,72±0,06	108,70±1,90	0,82±0,08	4,22±0,14	2,82±0,14
1-а група (n = 26)					
До лікування	3,87±0,09	111,90±1,20	0,84±0,08	4,12±0,22	2,48±0,12
7-10 день розвантажувального періоду	3,92±0,08	110,20±2,10	0,94±0,07	4,02±0,32	2,02±0,11
У кінці відновного періоду	4,11±0,02	115,90±0,09	0,99±0,04	4,36±0,11	2,08±0,22
$P_1$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
$P_2$	>0,05	>0,05	>0,02	>0,05	<0,05
$P_3$	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
2-а група (n=36)					
До лікування	3,69±0,02	110,61±2,32	0,84±0,09	4,52±0,24	2,56±0,11
7-10 день розвантажувального періоду	3,70±0,03	108,60±1,82	0,90±0,06	4,48±0,22	2,02±0,32
В кінці відновного періоду	3,82±0,03	114,82±0,82	0,99±0,02	4,26±0,22	1,78±0,25
$P_1$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
$P_2$	>0,05	>0,05	>0,02	>0,05	<0,05
$P_3$	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05

Продовження табл. 1

Показник	Паличко-ядерні %	Сегменто- ядерні, %	Лімфоцити, %	Моноцити, %	ШОЕ, мм/год
Контрольна група (n=20)					
	4,21±0,22	54,11±0,69	28,42±0,69	4,18±0,26	8,92±0,41
1-а група (n = 26)					
До лікування	4,36±0,71	56,22±1,82	29,46±2,12	4,16±0,52	9,61±0,32
7-10 день розвантажувального періоду	3,58±0,32	52,24±1,41	24,06±1,56	4,32±0,51	9,56±0,94
У кінці відновного періоду	3,49±0,32	53,71±1,42	33,46±1,24	3,96±0,45	10,66±1,02
$P_1$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
$P_2$	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
$P_3$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
2-а група (n=36)					
До лікування	4,04±0,56	63,42±1,41	28,86±1,12	3,48±0,25	9,60±1,31
7-10 день розвантажувального періоду	4,64±0,66	55,84±1,42	25,12±1,10	4,18±0,44	10,16±1,43
В кінці відновного періоду	5,02±0,68	57,56±1,52	27,14±1,64	4,22±0,46	10,54±1,62
$P_1$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
$P_2$	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
$P_3$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примітка.  $P_1$  – достовірність різниці показників у контрольній групі й у хворих до лікування;  $P_2$  – достовірність різниці показників у хворих до лікування і на 7-10 день розвантажувального періоду;  $P_3$  – достовірність різниці показників у хворих до лікування і в кінці відновного періоду.



нь розвантажувального періоду частота збільшилась до 9,1 %, а після лікування – зменшилась до 2,8 %.

Вивчення вмісту цукру в крові виявило його достовірне зниження на 7-10 день розвантажувального періоду, порівняно з початком лікування (від  $(4,52 \pm 0,06)$  ммоль/л до  $(3,69 \pm 0,04)$  ммоль/л), що пояснюється високою потребою в ньому організму, який переходить на жировому типі обміну [1]. До кінця відновного періоду рівень цукру під-

вищувався до  $(4,38 \pm 0,07)$  ммоль/л. Слід зазначити, що в тих хворих, у яких діагностували інсулінонезалежний цукровий діабет, рівень цукру під час РДТ нормалізовувався. Ці дані дають підставу вважати, що РДТ нормалізує процеси обміну речовин, у тому числі й вуглеводний.

**ВИСНОВОК.** У процесі РДТ відбуваються зміни загальноклінічних та біохімічних показників крові, що мають адаптивний характер.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Кузів П.П. Розвантажувально-дієтична терапія хронічних захворювань гепатобіліарної та стродуоденальної зон: Автореф. дис.... д-ра мед. ук. – К., 1993. – 36 с.

2. Лікування стабільної стенокардії. Рекомендації цільової розробки Європейського товариства кардіологів // Клін. фармакол., фізіол., біохім. – 1997. – № 4. – С. 60.

## ДИНАМИКА ОБЩЕКЛИНИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В ПРОЦЕССЕ РАЗГРУЗОЧНО-ДИЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Л.В. Радецкая, Ю.И. Сливка

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

Применён метод разгрузочно-диетической терапии (ГДТ) у 62 больных ишемической болезнью сердца (стабильная стенокардия напряжения I, II, III ФК). Показано, что в процессе лечения достоверно увеличиваются содержание эритроцитов, гемоглобина и цветной показатель. При анализе динамики следования биохимических параметров было выявлено тенденцию к повышению активности аминотрансфераз, содержания билирубина в крови, показатели которых нормализовались к концу курса РДТ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: разгрузочно-диетическая терапия, ишемическая болезнь сердца.

## DYNAMICS OF GENERAL CLINICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD INDICES IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE IN THE PROCESS OF FASTING-DIETETIC THERAPY

L.V. Radetska, Y.I. Sliyva

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

#### Summary

Methods of fasting-dietetic therapy (FDT) has been used in 62 patients with ischemic heart disease (stable angina pectoris of I-III classes). Erythrocyte, hemoglobine and colour indices were shown to increase significantly during the process of treatment. During the analysis of dynamic of biochemical parameters investigation it was shown the increasing of aminotransferase activity and bilirubin concentration in blood. These data were normalized to the end of FDT. The obtained results are estimated as adaptive reaction to treatment.

KEY WORDS: ischemic heart disease, long term fasting.

Отримано 5.07.2000 р.



## СПІВВІДНОШЕННЯ ВМІСТУ ІОНІВ $Ca^{2+}$ , $Na^+$ , $K^+$ І КОНЦЕНТРАЦІЯ СПЕРМІЇВ У СПЕРМІ ЧОЛОВІКІВ

Г.В. Максим'юк, З.Д. Воробець, В.М. Беседін  
Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького

У спермі чоловіків виявлено низький, середній та високий вміст іонів  $K^+$ . Залежно від виду іонів електролітів, між ними у плазмі й сперміях існує або прямий, або зворотний зв'язок. При цьому зміна кількості статевих клітин в еякулятах суттєво не впливає на величину вмісту іонів у плазмі й сперміях.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сперма, спермії, калій, натрій, кальцій.

**ВСТУП.** Сперма належить до тих секретів організму людини, вміст неорганічних речовин у яких вивчено недостатньо.

Переважна більшість дослідників вважає, що рухливість і запліднювальна здатність статевих клітин залежать від вмісту іонів електролітів у спермі [1, 2]. Відомі й цілком протилежні дані, які заперечують зв'язок між вмістом іонів в еякулятах та показниками якості сперми [5]. Метою нашої роботи було проведення досліджень, спрямованих на вивчення особливостей змін вмісту іонів  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  в системі "клітина-середовище" стосовно змін концентрації сперміїв в еякулятах.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліджували еякуляти з концентрацією сперміїв 2-86 млн/мл сперми. Методом центрифугування їх розділяли на плазму та спермії і визначали вміст іонів  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  та  $K^+$  [3].

Вміст іонів у спермі виразили сумарною величиною, а еякуляти для зручності аналізу поділили на три групи: з низьким, середнім і високим вмістом іонів  $K^+$ . Зміни проаналізували, відповідно, в 79, 81 і 24 еякулятах. Сумарний вміст іонів  $K^+$  у них становив 14-17, 23-26 і 33-38 ммоль/л. Аналіз результатів експерименту проводили методом математичної статистики і шляхом зіставлення з відомими даними [4, 5, 6, 7].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Порівняльний аналіз отриманих нами показників сумарного вмісту іонів  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  та  $K^+$  у плазмі та сперміях (табл. 1, 2) з відомими [4, 5, 7] середніми показниками їх вмісту в спермі свідчить про те, що величини верхньої та нижньої меж відхилень вмісту іонів  $Ca^{2+}$

збігаються або знаходяться в інтервалі 4-14 ммоль/л, а показник верхньої межі в 3 рази більший за показник нижньої.

При збільшенні або зменшенні вмісту іонів  $K^+$  у спермі збільшується чи зменшується вміст іонів  $Ca^{2+}$ . Встановлена пряма залежність між вмістом цих іонів, характерна також для плазми і сперміїв, але числові вирази вмісту інші. Необхідно також додати, що вміст іонів  $Ca^{2+}$  у плазмі в 3-7 разів вищий, ніж у сперміях. Тому співвідношення їх вмісту між плазмою і сперміями слід розглядати як зворотну залежність. Аналогічну ситуацію встановлено при визначенні вмісту іонів  $Na^+$  і  $K^+$ . Якщо відтворюваність показників крайніх меж сумарного вмісту іонів  $Ca^{2+}$  у спермі – висока й однакова, то іонів  $Na^+$  і  $K^+$  – низька і різна. Отримана величина нижньої межі вмісту майже ідентична з результатами досліджень [4, 5, 7], але величина верхньої в середньому на 20 ммоль/л, або 17 %, нижча для іонів  $Na^+$  і на 10 ммоль/л, або 36 %, вища для іонів  $K^+$ .

Пошук можливих шляхів появи невідповідностей результатів досліджень показав, що величина співвідношень вмісту іонів  $Na^+$ :  $K^+$  у спермі та її складових змінюється в межах 2-7:1. Але в дослідних групах вона різна: у НВК, I – 5-7:1, СВК, I – 3-5:1 і ВВК, III – 2-4:1. Отже, широкий і диференційований відносно груп інтервал змін зумовлений наявністю у спермі низького, середнього та високого вмісту іонів  $K^+$ .

Але, якщо проаналізувати динаміку змін величини співвідношень вмісту іонів  $Na^+$  і  $K^+$ :  $Ca^{2+}$ , то різниця між показниками не є такою очевидною, як у вивченому вище випадку. В спермі, плазмі та сперміях еякулятів дослідних груп НВК, I, СВК, II і ВВК, III в середньому міститься 16-24, 14-22 і 8-13 іонів  $Na^+$ , але лише 3-4, 2-6 і 2-4 іонів  $K^+$ . При цьому величина

Г.В. Максим'юк, З.Д. Воробець – д.б.н., проф.,  
В.М. Беседін – д.м.н., проф., 2000.



Таблиця 1 – Межі змін вмісту іонів у спермі, плазмі й сперміях

Автор і рік публікації	Об'єкт і групи еякулятів	Іони макроелементів (ммоль/л)		
		Ca <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
Mann, Молнар, Каган, 1958-1969 Mehl, 1986 Максим'юк, 1999	Сперма	5-13	87-139	12-28
	Сперма	-	207	60
	НВК, I	4-6	88-111	14-17
Mehl, 1986 Максим'юк, 1999	СВК, II	7-8	106-117	23-26
	ВВК, III	11-14	103-117	33-38
	Плазма	-	121	27
	НВК, I	3-5	70-87	11-13
Mehl, 1986 Максим'юк, 1999	СВК, II	6-7	88-95	18-20
	ВВК, III	9-12	82-90	27-31
	Спермії	-	86	33
	НВК, I	≤1	16-24	3-4
Mehl, 1986 Максим'юк, 1999	СВК, II	≥1	18-22	5-6
	ВВК, III	≥2	21-27	6-8

Примітка. НВК, I – низький, СВК, II – середній і ВВК, III – високий вміст іонів K<sup>+</sup>.

Таблиця 2 – Межі змін величин співвідношень вмісту іонів у спермі, плазмі й сперміях

Автор і рік публікації	Групи еякулятів	Величина співвідношень вмісту іонів								
		Між плазмою і сперміями			Na <sup>+</sup> :K <sup>+</sup> у			Na <sup>+</sup> і K <sup>+</sup> :Ca <sup>2+</sup> у		
		Ca <sup>2+</sup> :Ca <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup> :Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup> :K <sup>+</sup>	спермі	плазмі	сперміях	спермі	плазмі	сперміях
Mann, Молнар, Каган, 1958-1969	-	-	-	-	5-7:1	-	-	11-17 і ≥2:1	-	-
Mehl, 1986	-	-	1:1	1:1	3:1	4:1	3:1	-	-	-
Максим'юк, 1999	НВК, I	3-5:1	3-5:1	3-4:1	6-7:1	6-7:1	5-6:1	18-21 і 3:1	16-23 і 3-4:1	16-24 і 3-4:1
	СВК, II	6-7:1	4-5:1	3-4:1	4-5:1	4-5:1	3-4:1	≥15 і 3:1	14-15 і 2-3:1	18-22 і 5-6:1
	ВВК, III	4-6:1	3-4:1	4-5:1	≥3:1	2-3:1	3-4:1	8-9 і ≥3:1	8-9 і 2-3:1	11-13 і 3-4:1

співвідношень для іонів Na<sup>+</sup> майже однакова у групах НВК, I і ВВК, III, але різна у групах ВВК, III і СВК, II.

Зміни вмісту іонів у плазмі й сперміях вивчали також залежно від концентрації сперміїв

в еякулятах (табл. 3). Експериментально встановили, що при високій мінливості (C<sub>v</sub>=55-77 %) концентрації статевих клітин величина співвідношень вмісту іонів Na<sup>+</sup> і K<sup>+</sup> у плазмі еякулятів дослідних груп – однакова, а коефіці-

Таблиця 3 – Зміни вмісту іонів у плазмі й сперміях при різній концентрації статевих клітин в еякулятах

Групи еякулятів	Стат. показники	Конц. сперміїв (млн/мл)	Вміст іонів макроелементів (ммоль/л)					
			Плазма			Спермії		
			Ca <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>
НВК, I	n=43	2,38	4,27	78,81	12,48	1,14	23,21	3,69
	8	36,00	4,85	70,38	11,93	1,01	17,73	3,54
	7	44,71	4,38	85,10	13,14	0,76	19,13	3,70
	7	55,14	5,45	70,02	11,32	0,83	16,48	2,86
	7	64,14	3,46	86,56	12,38	1,13	23,67	3,84
	7	81,00	4,46	81,65	12,58	1,01	23,16	4,52
	<b>M</b>	<b>47,23</b>	<b>4,48</b>	<b>78,75</b>	<b>12,30</b>	<b>0,98</b>	<b>20,56</b>	<b>3,69</b>
<b>C<sub>v</sub>, %</b>	<b>57,07</b>	<b>14,72</b>	<b>9,08</b>	<b>5,03</b>	<b>15,86</b>	<b>15,40</b>	<b>14,45</b>	
СВК, II	n=31	5,35	7,09	90,59	19,80	1,43	21,05	4,73
	11	36,09	6,19	81,52	18,03	1,52	21,76	5,58
	11	44,64	7,30	95,47	19,93	1,17	17,91	4,88
	14	55,50	6,06	78,07	18,78	1,46	21,72	5,26
	14	64,50	6,72	80,78	19,81	1,56	21,40	5,67
	<b>M</b>	<b>41,22</b>	<b>6,68</b>	<b>85,29</b>	<b>19,07</b>	<b>1,43</b>	<b>20,77</b>	<b>5,22</b>
	<b>C<sub>v</sub>, %</b>	<b>55,20</b>	<b>8,13</b>	<b>8,67</b>	<b>4,33</b>	<b>10,17</b>	<b>7,81</b>	<b>7,95</b>
ВВК, III	n=7	2,43	8,95	82,34	30,79	2,01	25,07	6,74
	6	35,83	11,63	90,19	31,15	2,04	21,37	5,97
	7	58,71	10,96	89,95	26,79	2,67	27,23	6,67
	4	86,25	9,56	84,82	26,80	2,11	21,14	8,01
	<b>M</b>	<b>45,80</b>	<b>10,27</b>	<b>87,00</b>	<b>28,88</b>	<b>2,21</b>	<b>23,70</b>	<b>6,85</b>
	<b>C<sub>v</sub>, %</b>	<b>77,53</b>	<b>12,01</b>	<b>4,48</b>	<b>8,36</b>	<b>14,09</b>	<b>12,50</b>	<b>12,40</b>



ент варіації даних коливається в межах 4-9 %. Низька мінливість показників вмісту іонів  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$  у плазмі супроводжується дещо вищою мінливістю показників вмісту іонів  $\text{Ca}^{2+}$ .

Таким чином, визначений в еякулятах низький, середній і високий вміст іонів  $\text{K}^+$ , з одного боку, дає можливість припустити, що запрограмовану організмом на генному рівні здатність первинних статевих органів виробляти сперму з однаковим співвідношенням вмісту іонів легше контролювати як співвідношення двох різних фаз у системі "клітина-середовище" і не враховувати виділеної на об'єм плазми відповідної кількості клітин. З іншого боку, – оскільки коефіцієнт варіації показників вмісту іонів у сперміях вищий, ніж

у плазмі, то цілком можливо, що точність використаного нами методу не достатня для проведення такого роду дослідження.

**ВИСНОВКИ.** 1. У спермі, плазмі та сперміях виявлено низький (14-17, 11-13, 3-4), середній (23-26, 18-20, 5-6) і високий (33-36, 27-31, 6-8 ммоль/л) вміст іонів  $\text{K}^+$ .

2. Співвідношення вмісту іонів  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+:\text{K}^+$  між плазмою та сперміями, а також  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  у спермі, плазмі й сперміях виражено зворотним зв'язком, але іонів  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  – прямим.

3. Зміна кількості статевих клітин в еякулятах не змінює величини вмісту іонів  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  у плазмі й сперміях.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Зверева Г.В., Максим'юк В.М., Свідерко Б.Д. Методики визначень концентрації макроелементів калію, натрію і кальцію в сперміях і плазмі сперми бугаїв методом полум'яної фотометрії // Новое в методах зоотехнических исследований. – 1992. – ч.1. – С. 185-188.
2. Каган С. А. Патология сперматогенеза. – Л.: – 1969. – 203 с.
3. Молнар Е. Общая сперматология. – Будапешт. – 1969. – 294 с.

4. Плохинский Н. А. Биометрия. – М.: – 1970. – 326 с.
5. Battersby S., Chandler J. Correlation between elemental composition and motility of human spermatozoa // Fertility and Sterility – 1977 – 28, № 5. – P.557-561.
6. Dehninger S., Blackmore P., Morshedi M. // Fertility and Sterility. – 1994. – 61, №2. – P. 349-354.
7. Mann T. Biochemia nasienia. – Warszawa: – 1958. – 271 p.

## СООТНОШЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ И КОНЦЕНТРАЦИЯ СПЕРМИЕВ В СПЕРМЕ МУЖЧИН

Г.В. Максим'юк, З.Д. Воробец, В.М. Беседин

ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

#### Резюме

В сперме мужчин выявлено низкое, среднее и высокое содержание ионов  $\text{K}^+$ . В зависимости от типа ионов электролитов, между ними в плазме и спермиях существует или прямая, или обратная связь. При этом изменение количества половых клеток в эякулятах существенно не влияет на величину содержания ионов в плазме и спермиях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сперма, спермии, калий, натрий, кальций.

## $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ IONS CONTENTS RATIO AND SPERMATOZOA CONCENTRATION IN HUMAN SPERM

H.V. Maksymyuk, Z.D. Vorobets, V.M. Besedin  
LVIV STATE MEDICAL UNIFERSITY BY DANYLO HALYTSKY

#### Summary

The presence of low, average and high  $\text{K}^+$  ions concentration was found out in human sperm. Depending on the electrolyte ions type the direct or reverse connection between them exists in plasm and sperm. The alteration of sex cells in ejaculates doesn't essentially effect on the change of ions contents in plasm and sperm.

KEYWORDS: sperm, spermatozoa, potassium, sodium, calcium.

Отримано 10.03.2000 р.



## ВПЛИВ ГАММА-ОПРОМІНЮВАННЯ І НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ПЕЧІНКИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ

О.В. Горішна, Б.М. Горішний

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

*Білі щури різного віку протягом трьох місяців отримували перорально щоденно нітрат натрію в дозі 0,5 г на 1 кг маси тіла на добу і гамма-опромінювання кожні 9 днів по 0,2 Гр. Виявлено зниження забезпечення печінки макроергами (АТФ і креатинфосфатом), суми аденінових нуклеотидів і енергетичного потенціалу при зростанні вмісту АМФ, що особливо проявилось у наймолодшій віковій пі.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гамма-опромінювання, нітратна інтоксикація, енергетичний метаболізм, печінка, віковий аспект.

**ВСТУП.** В Україні є регіони, де на за-уднених нітратами територіях проживають ецифічні контингенти населення – переселенці з зон радіаційного ризику. Поєднання цих двох екобезпечних чинників диктує необхідність детального вивчення їх впливу на здоров'я людей. Метою нашої роботи стало ьельне дослідження комбінованої дії нітратної інтоксикації і тривалої дії дробного гамма-опромінення на енергетичний метаболізм печінки залежно від віку тварин.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експериментальну модель створено на білих щурах. Зривин поділили на інтактну групу і 4 піддослідних групи залежно від віку: в 1-й групі вік рив – 1 місяць, у 2-й – 3 місяці, у 3-й – 6 яців і 4-й – 12 місяців.

Протягом трьох місяців усі піддослідні зривин отримували нітрат натрію перорально дозі 0,5 г на 1 кг маси тіла на добу й одно-одно екстракорпорально гамма-опромінювання кобальтовою установкою "Агат" кожні 9 ів по 0,2 Гр у сумарній дозі 2 Гр. Евтаназію оводили під гексеналовим наркозом. У чінці визначали концентрацію АТФ за мілюмінесценцією люциферин-люциферної системи [3], АДФ і АМФ, неорганічний фосфат [2], креатинін [1]. Цифровий матеріал сліджень статистично обробляли, використовуючи критерій Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Отримані іроцесі дослідження дані наведено в табли-

О.В. Горішна – к.м.н., Б.М. Горішний, 2000.

ці 1. У печінці всіх дослідних груп щурів, порівняно з нормою, значно знизилась концентрація АТФ, креатинфосфату, сума аденінових нуклеотидів, енергетичний потенціал та підвищився вміст АМФ. Представлені дані вказують на порушення енергетичного метаболізму під впливом тривалої дії гамма-опромінювання і нітратної інтоксикації.

Звертають на себе увагу глибокі статистично достовірні відмінності ряду показників у печінці щурів, які отримували радіаційну і нітратну дію з першого місяця життя, порівняно із старшими групами, а саме: за концентрацією АТФ – з тваринами 6-місячної групи, АМФ – з тваринами 3-місячної і 6-місячної груп, за концентрацією креатинфосфату – з тваринами 6-місячної та 12-місячної груп. Накопичення неорганічного фосфату найбільшою мірою спостерігають у печінці щурів наймолодшого віку.

**ВИСНОВКИ.** 1. Комбінована дія дробного гамма-опромінювання малими дозами і хронічної нітратної інтоксикації призводить до зниження забезпечення печінки макроергами (АТФ і креатинфосфатом), суми аденінових нуклеотидів і енергетичного потенціалу при одночасному зростанні вмісту АМФ і неорганічного фосфату.

2. Вираження зазначених патологічних змін залежить від віку тварин – чим молодші тварини, тим більша глибина порушень.



Таблиця 1 – Стан енергетичного обміну в печінці білих щурів різного віку в умовах комбінованої дії дробного гамма-опромінювання і хронічної нітратної інтоксикації ( $M \pm m$ )

Показники	Інтактна група n=18	Нітратна інтоксикація і гамма-опромінення щурів			
		1-міс, n=20	3-міс, n=22	6-міс, n=25	12-міс, n=24
АТФ, ммоль/кг	1,98±0,03	1,09±0,04*	1,14±0,07*	1,28±0,03* <sup>1</sup>	1,23±0,05*
АДФ, ммоль/кг	1,14±0,09	0,97±0,03	0,93±0,07	1,02±0,12	0,85±0,09*
АМФ, ммоль/кг	0,46±0,02	1,07±0,08*	0,87±0,10* <sup>1</sup>	0,83±0,09* <sup>1</sup>	0,89±0,14*
Неорганічний фосфат, ммоль/кг	6,59±0,14	8,54±0,34*	8,06±0,25*	7,93±0,18	7,72±0,14
Креатин-фосфат, ммоль/кг	2,80±0,06	1,12±0,11*	1,46±0,09*	1,67±0,07* <sup>1</sup>	1,58±0,05* <sup>1</sup>
Сума аденинових нуклеотидів, моль/кг	3,58±0,07	3,13±0,04*	2,94±0,07*	3,13±0,05*	2,97±0,03*
Енергетичний потенціал	0,71±0,05	0,50±0,04*	0,55±0,02*	0,57±0,02*	0,56±0,06*

Примітка. \* – зміни достовірні, порівняно з показниками інтактної групи;

<sup>1</sup> – зміни достовірні, порівняно з показниками тварин 1-місячного віку.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Ферментні методи аналізу. – М.: Наука, 1969. – 734 с.
2. Кочетков Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М: Высшая школа, 1980. – С. 215-216.
3. Толстых Т.И., Титов А.И., Романова Н.А. и соавт. Определение концентрации АТФ в экстракте (экспресс-метод определения микробной обсемененности при лечении гнойных инфекций) / Методические рекомендации. – М., 1991. – 12 с.

## ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ И НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ ПЕЧЕНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

О.В.Горишная, Б.М.Горишный

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

#### Резюме

Белые крысы разного возраста в течении трех месяцев получали перорально ежедневно нитрат натрия в дозе 0,5 г на 1 кг массы тела в сутки и гамма-облучение каждые 9 дней по 0,2 Гр в суммарной дозе 2 Гр. Обнаружено снижение обеспеченности печени макроэргами (АТФ и креатинфосфатом), суммы адениновых нуклеотидов и энергетического потенциала при возрастании содержания АМФ, что особенно проявлялось в младшей возрастной группе крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гамма-облучение, нитратная интоксикация, энергетический метаболизм, печень, возрастной аспект.

## THE INFLUENCE OF THE GAMMA-IRRADIATION AND NITRATE INTOXICATION ON ENERGETIC METABOLISM OF THE LIVER DEPENDING ON THE AGE

O.V. Horishna, B.M. Horishny

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

#### Summary

The rats of the different age groups received perorally daily sodium nitrate in the dose 0,5 Gr/kg and gamma irradiation every 9 days in the dose 0.2 gr. There was revealed the decrease of the liver providing with macroergs (ATP and creatinphosphate), adenine nucleotide and the energetie protential at the increasing of AMP contents that was especially expressed in the youngest age group of rats.

KEY WORDS: gamma-irradiation, nitrate intoxication, energetic metabolism, liver, age aspect.

Отримано 10.07.2000 р.



## ВПЛИВ ШОКОГЕННИХ ФАКТОРІВ НА МОРФОГЕНЕЗ І РЕГЕНЕРАЦІЮ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА МОЖЛИВІСТЬ ЇХ КОРЕКЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕСУЛІДУ

І.О. Крицький

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Із використанням гістоморфологічних та морфометричних методів вивчали вплив шокогенних факторів на структуру та ріст кісток білих щурів при застосуванні месулід. Виявлено, що даний препарат позитивно діє на кістки у вищезазначених умовах.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кістка, шок, мінеральні речовини, морфогенез, месулід.

**ВСТУП.** У звичайних умовах структура кісток змінюється шляхом фізіологічної перебудови [2], що залежить не тільки від механічних, фізичних, але й від генетичних, ендокринних, гормональних, обмінних та інших факторів [1]. Одним з найпотужніших чинників стресу, саме тому нас зацікавив його вплив на кістку та можливість корекції наслідків його впливу за допомогою препарату месулід.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Імобілізаційний стрес моделювали шляхом фіксації щура на спеціальному пристрої. Усі тварини були розділені на 2 групи. Перша – контрольна. Тварини другої групи приймали разом з їжею месулід з розрахунку 5 мг на 1 кг ваги. Тварини вводили з експерименту методом декапітації наступним виділенням плечових, стегнових і великомілкових кісток. Кістки зважували з точністю до 0,01 мг. Вимірювали найбільшу довжину кістки, ширину проксимального епіфіза, середини діяфіза, товщину середини діяфіза і ширину дистального епіфіза. Мікроскопічно вивчали компакту речовину епіфіза плечової і стегнової кісток, проксимальний епіфізарний хрящ плечової і великомілкової кісток, дистальний епіфізарний хрящ стегнової кістки і губчасту речовину усідніх з даними хрящами метафізів. Фрагменти кісток фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, декальцинували у 10 % розчині ЕДТА і заливали в целулоїдні блоки. Готували гістологічні середовища товщиною 10-15 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозином. Для трансмісійних мікроскопічних досліджень шматочки епіфізарного хряща готували за стандартною

методикою. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамикротомі "ІМПТ-3", контрастували нітратом свинцю за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі "ЕМ-100ЛМ".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Введення месуліду викликає прискорення поздовжнього і поперечного росту довгих трубчастих кісток на 2,94-8,74 %, порівняно з контролем. Дещо менша відмінність при оцінюванні змін ширини проксимального і дистального епіфізів (1,57-6,64 %), а ширина середини діяфіза змінюється ще менше (0,77-2,27 %).

Ширина епіфізарного хряща проксимального і дистального епіфізів великомілкової кістки під дією месуліду збільшилася, порівняно з контролем, відповідно на 11,23 % і 8,82 %, а ширина зони проліферуючого хряща – на 21,82 % і 17,31 %, кількість клітин у стовпчиках збільшилася на 7,3 % і 5,69 %. Ширина зони дефінітивного хряща в проксимальному і дистальному епіфізах більша на 9,34 % і 7,17 %, ніж у контролі, а кількість клітин у колонках підвищена на 2,46 % і 2,87 %.

При якісній оцінці гістологічних препаратів епіфізарних хрящів плечової, стегнової і великомілкової кісток щурів, які отримували месулід, помітне більш інтенсивне забарвлення хондроцитів, частіше спостерігають фігури мітозів з трьох і більше молодих форм. Межі між зонами виражені чіткіше, ніж у контрольній групі тварин. Ця гістологічна картина свідчить про переважання процесів регенерації в кістці при дії даного препарату. Досить різноманітні зміни спостерігаються в діяфізі великомілкової кістки при введенні месуліду. Ширина шару внутрішніх генеральних пластинок менша, порівняно з контролем, на 5,38 %, а зовнішніх – на 3,69 %. Ширина остеонного



шару площі діафіза і компакної речовини великогомілкової кістки піддослідних тварин більша, відповідно, на 8,37 %, 5,59 % і 6,03 %. Площа кістковомозкового каналу зменшена, порівняно з контролем, на 3,14 %, а діаметр остеонів розширений на 6,11 % при зменшенні діаметра їх каналу в середньому на 8,11 %.

Введення месуліду призводить до змін мінерального насичення довгих трубчастих кісток піддослідних тварин. Вміст кальцію, фосфору, збільшується, тоді як кількість натрію, калію і магнію знижується. Під дією даного препарату підвищується загальна кількість неорганічних речовин: у плечовій кістці – на 2,24 %, у літтьовій – на 3,57 %, у променевої – на 3,24 %, у стегнової – на 5,45 % і великогомілкової – на 6,12 %.

Певний зсув спостерігають і в обміні мікроелементів. Так, кількість міді, марганцю і свинцю в довгих трубчастих кістках збільшується, відповідно, на 8,24-12,17 %, 4,07-8,45 % і 0,98-2,94 %; алюмінію – на 0,33-0,61 %. Введення месуліду призводить до підвищення мінералізації кісткової тканини, внаслідок чого збільшується її міцність: плечової – на 2,73 %, стегнової – на 3,42 % і великогомілкової – на 3,84 %.

**ВИСНОВОК.** Введення месуліду викликає прискорення поздовжнього і поперечного росту довгих трубчастих кісток, підвищення активності їх мінерального обміну і покращання кількісних та якісних характеристик.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гращенкова Т.Н. Влияние биомеханических стрессорных факторов на состояние тканей скелета // Ортопедия, травматология и протезир. – 1994. – № 4. – С.105.

2. Шок / Под ред. Ю. Шутеу, Т. Бендилэ, А. Кафрицэ. – Бухарест: Военное издательство. – 1991. – 350 с.

### ВЛИЯНИЕ ШОКОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА МОРФОГЕНЕЗ И РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ КОРРЕКЦИИ С ПОМОЩЬЮ МЕСУЛИДА

И.О. Крицкий

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

С использованием гистоморфологических и морфометрических методов изучали влияние шокогенных факторов на структуру и рост костей белых крыс при применении месулида. Выявлено, что этот препарат положительно действует на кости у вышеназванных условиях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кость, шок, минеральные вещества, морфогенез, месулид.

### SHOCKOGEN FACTORS INFLUENCE ON THE MORPHOGENESIS AND REGENERATION OF BONE TISSUE AND POSSIBILITY OF THEIR CORRECTION BY MEANS OF MESULID

I.O. Krycky

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

#### Summary

In the experiment on white rats by means of histomorphologic and morphometric methods the influence of shockogen factors on the structure and growth of bones using Mesulid was studied. It was found that this preparation has positive influence on the bones system in above mentioned conditions.

KEY WORDS: bone, shock, mineral substance, morphogenesis, Mesulid.

Отримано 12.05.2000 р.



УДК 577.17.049+616.5-004.1

**ВИКОРИСТАННЯ ПЛАЗМОВОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАЛІВ У БІОЛОГІЧНИХ ЗРАЗКАХ**

**А.І. Мазепа, І.В. Мазепа**

**ІВАНО-ФРАНКІВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ**

*У даній роботі узагальнюються результати адаптації аналітичної системи PLASMAQUANT-110, що працює за принципом емісійного спектрального аналізу з індуктивно зв'язаною плазмою, для дослідження біологічного матеріалу (крові та її компонентів, сечі, слини тощо). Шляхом багаторазових експериментальних схем вивчено аналітичні лінії більше як для 40 хімічних елементів, переважно металів, що входять у групи есенційних, умовно-есенційних та токсичних елементів. Змінюючи параметри полум'я, газових потоків та схеми дослідження металів, ми розробили комп'ютерні аналітичні програми для різних груп важких металів.*

*Доповнивши кількісний аналіз важких металів програмою статистичної обробки, нам вдалося кардинально об'єктивізувати аналітичні етапи роботи (з фіксацією всіх можливих помилок роботи), отримувати статистично оброблені результати і поставити кількісний аналіз металів біологічного матеріалу на конвеєр з практично необмеженими можливостями. Наведено отримані регіональні показники вмісту важких металів у сироватці крові донорів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** плазмова спектрофотометрія, метали.

**ВСТУП.** Кількісний аналіз хімічних елементів в аналітичній хімії завжди був складною проблемою, особливо стосовно вмісту важких металів у біологічному матеріалі. Труднощі при визначенні кількісного вмісту металів у структурі біологічних тканин мають різне походження. Як відомо, в біологічному матеріалі міститься невелика кількість важких металів, що ставить перед дослідником декілька похідних проблем: необхідність досліджувати великі наважки біологічного матеріалу, зберегти природним якісний та кількісний склад елементів у зразках в процесі доаналітичної підготовки, запобігти зовнішньому забрудненню досліджуваного матеріалу, використати високочутливу аналітичну апаратуру.

Технічна база в сучасному хімічному аналізі важких елементів у біології є визначальним фактором, оскільки її можливості повинні базуватися на дослідженні електронної структури атомів, поведінці ядерних частинок, термодинамічних параметрів, тобто тих характеристик елемента, які досліджуються складною аналітичною технікою.

У проблемній лабораторії біохімічної екології Івано-Франківської медичної академії протягом останніх років використовують для визначення вмісту важких металів прецизійну аналітичну систему PLASMAQUANT-110 виробництва фірми "Zeiss" (Німеччина) [1].

© А.І. Мазепа, І.В. Мазепа – д.м.н., проф., 2000.

У даній статті узагальнюється досвід аналітичної роботи на PLASMAQUANT-110 при дослідженні біологічного матеріалу різного біологічного походження на вміст важких металів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** PLASMAQUANT-110 являє собою аналітичну систему, яка працює за принципом оптичного емісійного спектрального аналізу із суттєвою відмінністю від усіх інших систем аналогічного типу – системою збудження. Завдяки аргоновій плазмі, температура, в якій збуджуються компоненти досліджуваної проби досягає 10000 °С. У такому температурному режимі проба переходить в плазму, тобто в стан, який не досягається жодною комбінацією ацетиленового полум'я.

Функціональний принцип структури PLASMAQUANT-110 представлений на схемі 1.

Система PLASMAQUANT-110, як видно зі схеми, має модульну конструкцію, яка включає чотири вузли:

- 1) система розпилювач-пальник;
- 2) модуль індуктивно зв'язаної плазми (ІЗП);
- 3) спектрометр;
- 4) комп'ютер для управління роботою PLASMAQUANT-110 та статистичної обробки результатів вимірювання.

Рідка проба, що підлягає дослідженню, за допомогою розпилювача засмоктується і



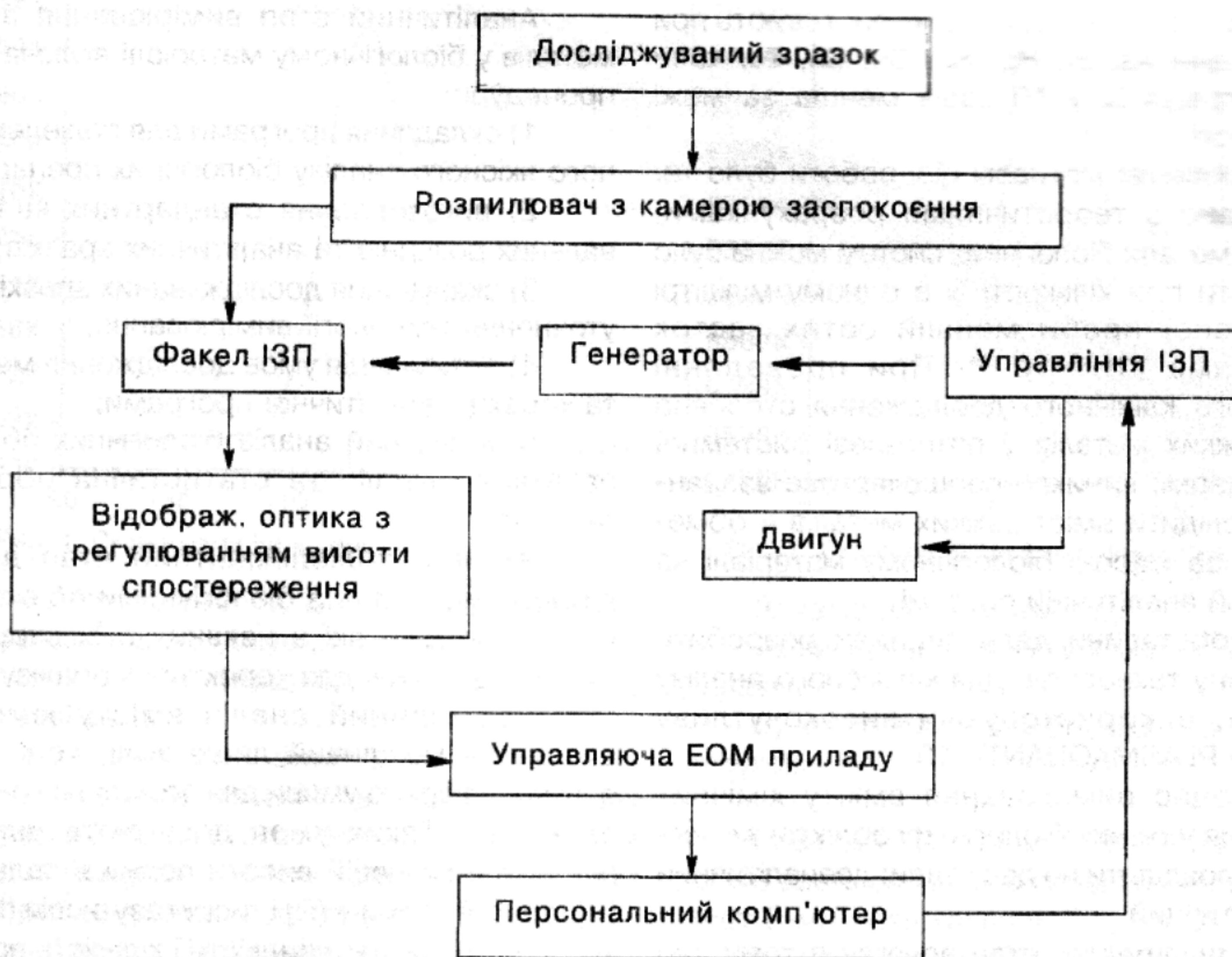


Схема 1. Принцип структури PLASMAQUANT-110.

перетворюється в аерозоль. Останній, проходячи через камеру заспокоєння, потрапляє в іальник. В аргонівій плазмі елементи проби буджуються. Випромінювання, яке генерується збудженими атомами проби посилається а допомогою оптичної системи на вхідну ділину поліхроматора з решіткою Ешелле. З допомогою решітки Ешелле та призми поліхроматор розкладає випромінювання проби і направляє світловий спектр у фокальну лощину.

Аналіз спектральних ліній здійснюється ванадцятьма фотоелектропомножувачами ФЕП). Підсилені на ФЕП сигнали надходять а 12 аналогово-цифрових перетворювачів. Ідсилені вихідні імпульси аналізуються за опомогою ЕОМ, яка регулює, крім цього, сновні параметри індуктивно зв'язаної плазми ЗП), роботу всіх двигунів у спектрометрі, іагнітних вентилів системи газопостачання лазми в модулі ІЗП, контролює потужність ісокочастотного генератора, який підтримує еобхідну для плазми енергію.

Загальним процесом аналізу та обробки езультатів вимірювання керує персональний змп'ютер.

PLASMAQUANT-110 – це система, яка змплектується сучасними технічними вузлаи, що оптимізують роботу приладу в складних аналітичних ситуаціях.

Фірма-виробник передбачала використання системи в металургії, охороні водоймищ та навколишнього середовища, хімічній промисловості при серійних дослідженнях кислих, лужних, водних та органічних розчинів.

Для проведення таких аналітичних операцій PLASMAQUANT-110 комплектують різними варіантами пальників, камер заспокоєння, розпилювачів, автоматичним пробоподавачем.

Модифікуючи параметри полум'я, напруги, подачу газу, програмні комбінації металів, PLASMAQUANT-110 дає можливість виконувати складні аналітичні завдання.

До роботи з біологічним матеріалом система PLASMAQUANT-110 не була пристосована.

Ці обставини дали підстави адаптувати систему PLASMAQUANT-110 до кількісного визначення металів у різних біологічних тканинах, тим більше, що в останні роки ця ділянка дослідницької роботи вимагає нових аналітичних технологій.

Аналітичні програми фірми-виробника дають можливість вимірювати лише ті метали, концентрація яких висока, порівняно з такими в біологічних матеріалах.

При розробці схеми застосування PLASMAQUANT-110 в біології та медицині було враховано те, що система комплектується



дридною системою, яку використовують при дослідженні As, Bi, Hg, Sb, Se, Sn, Te, коли концентрація їх у 10 разів менша за межі утливості.

Важливим мотивом цієї роботи було те, що, згідно з теоретичними розрахунками, сновні метали біологічних систем можна було визначити при кількості їх в одному мілілітрі озчищеної проби меншій сотих часток анограма ( $10^{-9}$ - $10^{-12}$ ). При проведенні складного клінічного дослідження стосовно олі важких металів у патогенезі системної клеродермії виникло першочергове завдання – дослідити вміст важких металів в обмеженому за масою біологічному матеріалі на ефектній аналітичній системі.

Ці обставини дали підстави розробити аналітичну технологію для кількісного аналізу металів, використовуючи високочутливу систему PLASMAQUANT-110.

Процес вимірювання вмісту хімічних елементів у різних біологічних об'єктах можна умовно розділити на два етапи: доаналітичний і аналітичний.

Доаналітичний етап полягає в тому, що він включає всі ті маніпуляції, якими біологічний матеріал доводиться до одержання гомогенного прозорого розчину. В даній роботі при доаналітичній підготовці зразків ретельно виконано всі хімічні маніпуляції в умовах міцної стерильності лабораторних приміщень, реактивів та обладнання.

Процес мінералізації біологічних зразків зводився нами сухим та мокрим методами використанням хімічно чистих азотної кислоти та пергідролі. Проте, проаналізувавши суть обох методів мінералізації зразків, механізми можливого забруднення зразків у процесі підготовки та врахувавши факт, що досліджувана проба при роботі на PLASMAQUANT-110 повинна бути в рідкому стані, ми вибрали метод мокрої мінералізації. Якщо мінералізація, як відомо, має ряд переваг перед сухим озоленням, зокрема в плазмі практично виключається сублімація елементів з проби при температурі понад  $50^{\circ}\text{C}$ . Вона дає можливість швидко, при великих затратах часу в стандартних умовах отримувати велику кількість зразків.

Аналітичний етап вивчення вмісту елементів – це визначення їх кількості в певних зважках біологічних зразків.

Аналітичний етап визначення вмісту хімічних елементів на всіх стадіях, включаючи подачу проби, проводиться автоматично у відповідності до специфіки складеної програми.

Аналітичний етап вимірювання вмісту металів у біологічному матеріалі включає такі процедури:

- 1) складання програми для поліелементного якісного аналізу біологічних препаратів;
- 2) виготовлення стандартних калібрувальних розчинів та аналітичних зразків;
- 3) сканування досліджуваних зразків для уточнення технології вимірювання;
- 4) оптимізація умов дослідження металів та корекція аналітичної програми;
- 5) кількісний аналіз біологічних об'єктів на вміст металів та статистична обробка результатів.

Якісний поліелементний етап дослідження проводять з біологічними об'єктами, коли невідомо, які з наявних в їх структурі металів доступні для коректного аналізу.

Достовірний аналіз вмісту хімічних елементів можливий лише тоді, коли правильно підбрано умови для атомізації кожного елемента. Таких умов досягають шляхом підбору комбінацій висоти полум'я пальника (H), енергії полум'я (P) і тиску газу-носія (NEB), від яких залежать швидкість і кількість проби, що подається в пальник [1,2]

Якісний аналіз елементів проводять на так званій "сумарній" пробі та стандартних розчинах (фірма MERCK, Німеччина). "Сумарна" проба, що формується з частин однотипних зразків однієї групи, відображає особливості всього досліджуваного біоматеріалу.

Для проведення попереднього дослідження "сумарної" проби і стандартів створюють файл (Sampletype), відповідно до якого аналізують максимально велику групу хімічних елементів (нерідко 35-40 металів). Якість попереднього дослідження "сумарної" проби і стандартів оцінюють за формою спектра променів кожного елемента.

Елементи, що мають задовільну форму піку (рис.1), не потребують подальшого підбору параметрів вимірювання і відокремлюються в окрему групу.

Елементи, атомізація яких проходить незадовільно, тобто відсутні чіткі піки (рис. 2) потребують додаткової оптимізації умов вимірювання.

Оптимізацію починають зі створення нового файла, в якому задаються нові умови дослідження, зокрема створюються нові комбінації висоти (H) й енергії (P) полум'я, починаючи з найнижчих значень і доводячи їх до максимальних. У разі відсутності чітких аналітичних піків при всіх можливих комбінаціях оптимізацію необхідно проводити повторно шляхом підбору інших аналітичних операцій



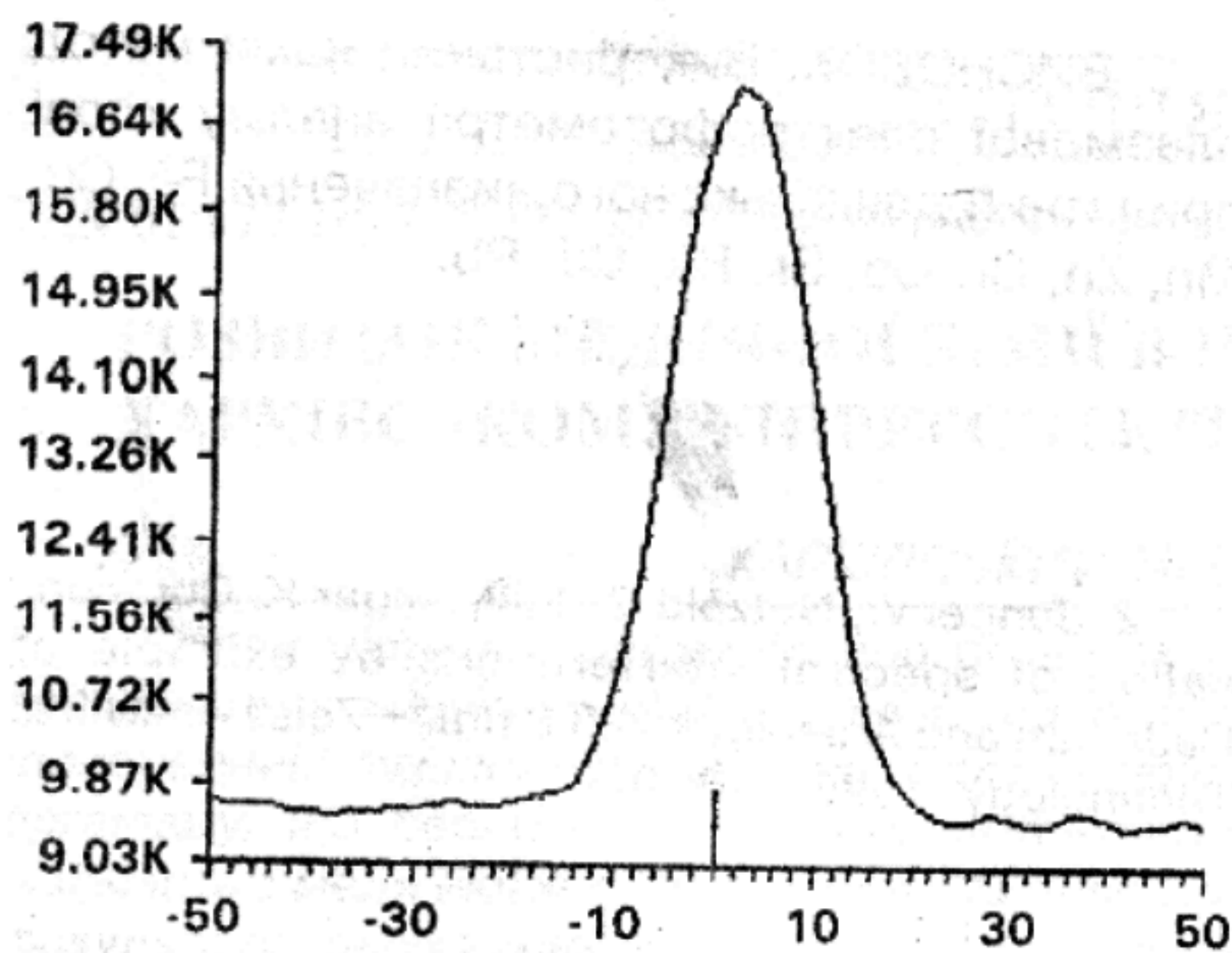


Рис. 1. Сканограма Fe в сироватці крові донорів.

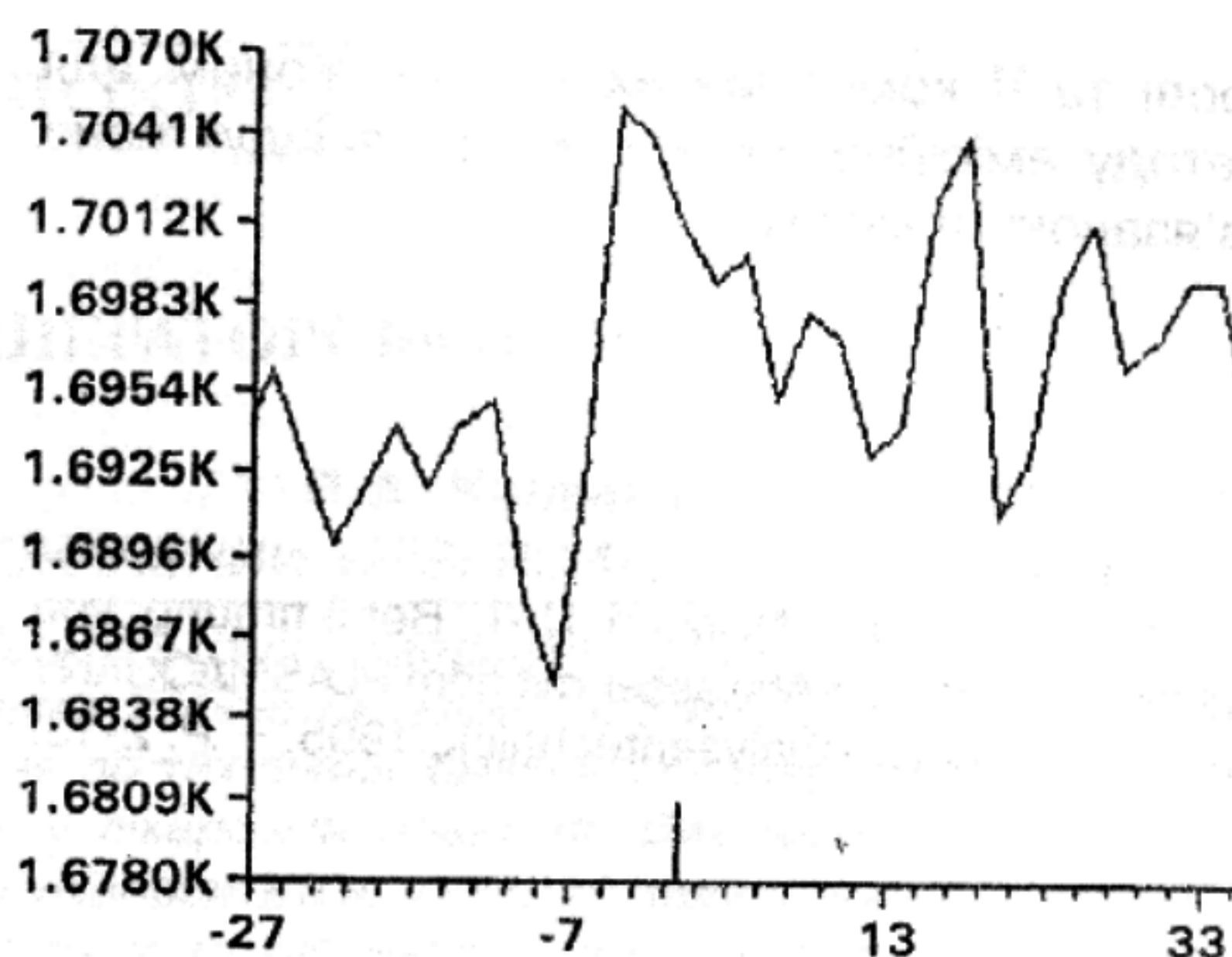


Рис. 2. Сканограма Hg в сироватці крові донорів.

(концентрування чи розведення зразка, екстракція досліджуваного металу специфічними розчинниками, зміною процесу мінералізації).

Важливе значення для коректного вивчення вмісту металів має підбір хімічного посуду, матеріал якого повинен бути інертним до досліджуваних елементів. У досліді ми використовували тефлоновий та поліетиленовий посуд. Загально визнаним аналітичним триюмом, що чітко витриманий у нашій роботі, є чистота лабораторного приміщення, яке повинно відповідати вимогам до лабораторій "хімічної стерильності".

Після проведення повторного оптимізаційного вимірювання оцінюють його результати. Для кожного елемента підбираються оптимальні умови атомізації, тобто такі комбінації показників висоти й енергії полум'я, при яких вплив "сусідніх" спектральних ліній та шумів є мінімальним. Правильність підбору показників  $H_i$  перевіряють повторним скануванням при ових (знайдених) умовах атомізації.

Кількісний аналіз металів у біологічному матеріалі проводять шляхом вимірювання по одному файлу окремо з попереднім калібруванням (вимірюванням стандартів) та обудови калібрувального графіка, по якому озраховують концентрації хімічних елементів досліджуваних зразках.

Проведення кількісного аналізу складається з таких етапів:

- 1) створення аналітичного файлу, згідно яким буде проводитись дослідження;
- 2) підбір параметрів приладу;

- 3) калібрування приладу;
- 4) визначення вмісту хімічних елементів у зразках;
- 5) статистична обробка результатів вимірювання.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У даній роботі зроблено аналіз крові 26-ти донорів на вміст 8-ми есенціальних (Fe, Cu, Zn, Mn, Cr, Se, Mo, Co), 2-х умовноесенційних (Sr, Ni) та 6-ти металів-токсикантів (Cd, Pb, Hg, Ba, Tl, Bi) (табл. 1).

Як показали результати з наведених сканограм, есенційні мікроелементи Fe, Cu, Mn, Zn, Cr, Co мали чіткі аналітичні піки, які давали можливість у подальшому проводити їх кількісний аналіз. Аналіз сканограм Mo і Se як до, так і після оптимізації свідчить про те, що кількісний аналіз його проводити було недоцільно, оскільки зміна параметрів дослідження не призвела до появи чіткого аналітичного піку.

З умовно-есенційних мікроелементів задовільний аналітичний пік ми отримали лише для Sr. Аналітичний пік Ni був незадовільний при використанні всіх можливих комбінацій параметрів визначення при оптимізації умов.

При якісному аналізі донорської крові на наявність токсикантів отримано чіткий аналітичний пік для Ba та задовільні піки для Cd і Pb. Аналітичні піки для Bi та Hg відсутні, що робить неможливим їх кількісний аналіз у подальшому. Аналітичний пік Tl наявний, однак його вершина знаходиться на межі чутливості приладу, що робить його кількісний аналіз у

Таблиця 1 – Концентрація мікроелементів у сироватці крові донорів, мкмоль/л (n=26)

	Fe	Cu	Zn	Co	Cr	Sr	Ba	Pb	Mn
M	18,75	15,27	15,03	0,51	2,66	2,65	3,59	1,44	3,49
$\pm m$	8,24	5,93	6,30	0,22	0,75	0,66	2,31	0,44	1,00
min	7,72	4,31	4,30	0,13	1,33	1,65	0,99	0,61	1,82
max	43,39	31,00	38,87	0,96	5,86	4,90	10,35	2,25	6,69



в та її компонентах недостовірним для ряду емісійної спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою.

**ВИСНОВОК.** Використаний нами метод плазмової спектрофотометрії аналізу крові придатний для кількісного визначення Fe, Cu, Mn, Zn, Cr, Co, Sr, Ba, Cd, Pb.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Kerstan F., Notzold C.-I. Bestimmung von Schwermetallen in Abwasser mit dem PLASMAQUANT 110. – Zeiss Analysetechnik, 1995. – P. 2-13.

2. Jungel V., Notzold C.-I., Weniger K. Compensation of spectral interferences by example of Cadmium and Arsenic at 228.8 nm. – Zeiss Analytical Technology, 1995. – P. 9-17.

## ПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАЗМЕННОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАЛЛОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ

**А.И. Мазепа, И.В. Мазепа**

**ИВАНО-ФРАНКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ**

#### Резюме

В данной работе обобщаются результаты адаптации аналитической системы PLASMAQUANT-110, которая работает по принципу эмиссионного спектрального анализа с индуктивно связанной плазмой, для исследования биологического материала (крови и её компонентов, мочи, слюны и т.д.). Путём многократного анализа экспериментальных схем изучены аналитические линии более чем для 40 химических элементов, преимущественно металлов, которые входят в группы эссенциальных, условно эссенциальных и токсических элементов. Изменяя параметры пламени, скорости потоков, схемы исследования металлов, мы разработали компьютерные аналитические программы для разных тяжёлых металлов.

Дополнив количественный анализ тяжёлых металлов программой статистической обработки, удалось кардинально объективизировать аналитические этапы работы (с фиксированием всех возможных ошибок в работе), получать статистически обработанные результаты и поставить задачу количественного анализа тяжёлых металлов биологического материала на конвейер с практически неограниченными возможностями. Приведены полученные региональные показатели содержания тяжёлых металлов в сыворотке крови доноров.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** плазменная спектрофотометрия, металлы.

## PLASMAQUANT SPECTROPHOTOMETRY APPLICATION FOR INVESTIGATION OF METALS IN BIOLOGICAL SPECIMENS

**A.I. Mazepa, I.V. Mazepa**

**IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL ACADEMY**

#### Summary

This study summarizes the results of adaptation of analytical system PLASMAQUANT-110, which works on the principle of emissive spectral analysis with inductively connected plasma for investigation of biological material such as blood and its components, urine, saliva, etc. The analytical lines for more than 40 chemical elements have been studied by means of numerous experimental schemes, the most of them are metals that belong to the groups of essential, conditionally essential and toxic elements. The computer analytic programs for various groups of heavy metals have been worked out by changing the parameters of gas streams flame and schemes for metals investigations.

The combinations of quantitative analysis processing gave the chance to make analytic stages of the work objective (with the fixation of all possible mistakes), to get statistically calculated results and to put the quantitative analysis of biologic materials metals on conveyer with practically unlimited opportunities. The obtained regional indices of heavy metals contents in blood serum of donors have been adduced.

**KEY WORDS:** plasmatic spectrophotometry, metals.

Отримано 18.04.2000 р.



УДК 61:577.1(0.91)(477.54)+612.015(0.91)(477.54)

РОЗВИТОК МЕДИЧНОЇ ХІМІЇ В ІМПЕРАТОРСЬКОМУ  
ХАРКІВСЬКОМУ УНІВЕРСИТЕТІ

П.А. Каліман, Г.О. Чернишенко

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА

Стаття містить інформацію про розвиток у Харківському університеті у XIX-на початку XX ст. досліджень з медичної хімії – науки, що тоді являла собою складову частину фізіологічної хімії (попередниці сучасної біохімії), яка мала відношення до тих знань хімічного складу тканин та рідин організму, що безпосередньо використовувались у лікарській практиці. Викладання та наукову діяльність з медичної хімії проводили в Харківському університеті на кафедрі медичної хімії медичного факультету, заснованої в 1865 р. Тоді на кафедрах з такою назвою зосереджувались наукові дослідження не тільки власне з медичної хімії, але майже з усіх тих наукових напрямків (фізіологічна хімія, зоохімія), які призвели до утворення біологічної хімії на початку XX ст. Показано, що кожен з керівників кафедри займався в основному одним із таких напрямків, залежно від його освіти та наукових інтересів. У Харківському університеті працювали такі видатні біохіміки, як О.Я. Данилевський та В.С. Гулевич. Вони, однак, займалися не прикладною медичною хімією, а теоретичними біохімічними проблемами, хоча в навчальному процесі головну увагу приділяли саме медичній хімії. Дослідження з клінічної медичної хімії проводили такі вчені, як Т.І. Богомолів та Н.І. Васильєв. Велика увага у статті приділяється не тільки розвитку наукових досліджень, але й постановці навчального процесу та педагогічній діяльності професорів кафедри.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: історія науки, медична хімія, біохімія, Харківський університет.

У XIX ст. біологічна хімія як предмет викладання і галузь наукових досліджень розвивалась не в межах самостійної дисципліни, а у вигляді декількох незалежних паралельних наукових напрямків, що належать до різних галузей науки (органічна хімія, фізіологічна хімія, фітохімія тощо) [22, 39]. Одним з таких напрямків була медична хімія, тобто та складова частина фізіологічної хімії, яка найтісніше пов'язана з практичною медициною. Найбільш вдале визначення терміна "медична хімія" запропонував професор І.І.Словцов: "Медична хімія є опис найрізноманітніших аналітичних хімічних прийомів, які потрібні лікареві" [30]. Вона стосується якісних та кількісних змін хімічного складу тканин людського організму при різних захворюваннях (патологічна хімія), а також хімічних методів дослідження тканин і рідин організму для діагностики захворювань (клінічна хімія). Викладання медичної хімії здійснювалося в курсі фізіологічної хімії. У підручниках з фізіологічної хімії велика частина матеріалу присвячувалась медичній хімії. Так, Гоппе-Зейлер, один із засновників фізіологічної хімії, надавав великого значення вивченню хімії патологічних процесів, що є пріоритетом медичної хімії. Свій підручник "Фізіологічна

хімія" він визначив як посібник з фізіолого- і патолого-хімічного аналізу для лікарів та студентів [12].

У роботах з історії біохімії мало досліджено розвиток цієї галузі. Але, починаючи із середини XIX ст. біохімія протягом тривалого часу розвивалась в основному в межах медичних наук і розглядалась передусім як прикладна частина медицини і фізіології. Недаремно викладання біохімії в університетах почалося на медичних факультетах і перші біохімічні кафедри називали кафедрами медичної хімії.

Дана стаття присвячена розвитку медичної хімії в одному з найстаріших ВНЗів України – Харківському університеті. Викладати предмети, що стосуються хімії живих організмів, в Харківському університеті почали із середини XIX ст. Цей час є переломним етапом в розвитку біологічної хімії [38]. Якщо раніше провідну роль тут відігравали хіміки-натуралісти, які досліджували біологічні об'єкти методами хімії й описували все нові біологічні речовини та їх властивості, то накопичений на цей момент величезний фактичний матеріал вже надавав можливість широко застосовувати отримані знання в медицині для розпізнавання та лікування хвороб. А потреба в щонайшвидшому розвитку цієї галузі науки, так необхідній людству, викликала в лікарів підвищений

П.А. Каліман – д.б.н., проф., Г.О. Чернишенко, 2000.



перес до дослідження хімічного складу живих організмів. Досить швидко акцент у розвитку хімічних наукових напрямків змістився від органічної хімії у бік медицини, передусім зоології. Уже з'явилася можливість використовувати досягнення хімії для вивчення функцій органів і тканин, а також досліджувати процеси життєдіяльності організму на рівні перетворень (творення і розпаду) хімічних сполук. Хімія має важливим предметом викладання на медичних факультетах, причому особлива вага приділяється викладу знань про біологічні речовини. У Харківському університеті в 1847 р. професор А.І. Ходнев читає спеціальний курс органічної хімії "з особливими додатками до зоології і патології" для студентів-медиків [6]. У цьому ж році він надрукував спеціальний навчальний посібник, який назвав "Курс зоологічної хімії" [37]. Його справедливо вважають першим підручником з біохімії в Росії. Термін "фізіологічна хімія" тільки почали тоді застосовувати, й А.І. Ходнев розглядає особливості цього розділу хімії: "Органічна хімія розглядає тіла тільки в чисто хімічному відношенні, не звертаючи уваги на функції, яку вони відіграють в живому організмі. Але ті ж самі тіла, коли розглядаються в їхньому відношенні, складають вже предмет фізіологічної хімії... Фізіологічна хімія розглядає не тільки склад і властивості речовин..., але й старається пояснити процес їх утворення в тваринному організмі" [37]. Тобто цей термін містить у собі розвиток наукових знань і межі хімії та фізіології. Із змісту підручника можна зробити висновок як про рівень розвитку біохімії в той час, так і про характер викладання цього предмета: воно мало статичний характер і являло собою опис різних класів хімічних сполук, що містяться у тваринах і рослинах, і їх властивостей. Однак А.І. Ходнев наводить інформацію і про біологічну роль цих речовин в організмі.

Подальший розвиток знань у галузі медицини, фізіології і хімії призвів до необхідності у введенні на медичних факультетах окремих курсів медичної або фізіологічної хімії, також спеціальних практикумів для ознайомлення студентів-медиків з хімічними методами дослідження тканин і рідин організму. У Росії відповідно з Університетським статутом 1863 р. на медичних факультетах створювали кафедри медичної хімії і фізики, на яких передбачалося викладання таких дисциплін, як "фізіологічна хімія, патологічна хімія, практичні заняття в лабораторії, прикладна фізика" [35]. Фактично збули перші кафедри біохімії в країні й уже зма їх назва говорила, що вивчення хімії

живих організмів передусім необхідне для теоретичної та практичної медицини. У Харківському університеті така кафедра була заснована в 1865 р. [15], і викладання на ній було доручено доценту Ф.В. Тіхоновичу (через рік після цього він захистив докторську дисертацію, а в 1867 р. був призначений ординарним професором). У 1866 р. в хімічній лабораторії університету було відкрито медичне відділення, де студенти медичного факультету займалися "елементарним та зоохімічним аналізом" [16]. Під керівництвом Ф.В. Тіхоновича – до 1885 р. – на кафедрі практичні заняття студентів полягали в "добуванні та вивченні цікавих тваринних речовин, у вивченні методів дослідження тваринних рідин, нормальних та патологічних" [21]. Викладання на кафедрі стосувалося саме медичної хімії і було тісно пов'язане з практичною медициною. Але, крім навчального процесу, на університетських кафедрах проводили і наукові дослідження. Ф.В. Тіхонович, хімік за освітою, займався в основному дослідженнями, що стосувалися більше органічної хімії (хімічні властивості біологічних речовин) [18], інша частина його робіт належала безпосередньо до фізіологічної хімії – джерела походження глікогену, перетворення кисню в крові [17].

Дослідження, пов'язані з прикладною медициною, у Ф.В. Тіхоновича практично відсутні, відоме лише його повідомлення "Про саліцилову кислоту" [34]. У ті роки, у зв'язку з високим зростанням населення і частими воєнними діями, набула актуальності проблема тривалого зберігання харчових продуктів (м'яса, хліба); вівся пошук оптимальних речовин-консервантів. У грудні 1877 р. на засіданні медичної секції Товариства природничих наук Харківського університету виступив професор Я.С. Кремянський. У своїй доповіді він рекомендував використовувати саліцилову кислоту як консервант харчових продуктів [19]. Ф.В. Тіхонович вирішив перевірити ці дані: у своїй лабораторії він провів дослідження щодо дії саліцилової кислоти на організм. І вже в березні 1878 р. виступив з відповідною доповіддю, у якій показав, що ця кислота негативно впливає на організм як у великих, так і в середніх дозах, отже, використовувати її як консервант харчових продуктів не рекомендується [34].

Після виходу Ф.В. Тіхоновича у відставку кафедрою медичної хімії протягом 7 років (1885-1892 р.р.) завідував випускник Харківського університету – професор О.Я. Данилевський. З його приходом починається новий етап розвитку біохімії в Харківському



університеті. На відміну від А.І. Ходнева і Р.В. Тіхоновича, О.Я.Данилевський був випускником медичного факультету. У своїх дослідженнях він виходив із методологічних підходів принципів біології та фізіології. О.Я. Данилевський був ученим-теоретиком фундаментального складу, і його інтереси були пов'язані з наукою, яка вивчає загальні принципи життєдіяльності різних біологічних об'єктів [4]. У своїй вступній лекції "Нарис органістичних сил організмів" він відразу ж розділяє теоретичну і практичну частини свого предмета. Першу він називає фізіологічною хімією, або хімічною фізіологією, а другу – патологічною хімією [14]. Власне медичною хімією, тобто хімією, безпосередньо підлеглою лікарській справі, є патологічна хімія, яка, за О.Я. Данилевським, "по-перше, визначає хімізм походження і значення для всієї економії кісних і кількісних відхилень хімічних процесів, до складають суть відправлень багатьох органів і тканин... По-друге, збирає хімічні методи дослідження тканин і рідин організму і кремних хімічних сполук в якомога струнку системі, пристосовану до цілей медичної діагностики" [14]. Однак фізіологічна хімія в розумінні того часу теж не може бути абсолютно тотожною сучасній біохімії, вона також є самостійною наукою, а ніби частиною фізіології. Ось що пише про це О.Я. Данилевський: "Завдання фізіологічної хімії те ж, що і завдання фізіології, – розслідування і вивчення явищ та процесів живого організму з такою різницею, що фізіологічна хімія спрямовує своє дослідження тільки на ділянку хімічних процесів. Вона прагне... не тільки відкрити і зробити зрозумілими хімічні реакції, що лежать в основі якого-небудь явища в організмі, але розглядає останній ніби складно урядковану самодіючу лабораторію, в якій для введених в неї хімічних сполук чітко визначена, в якій перетворення, утворення і розпади цих сполук спрямовані в кінцевому результаті до підтримки життя і нормальних відправлень організму" [14]. І хоча біохімія в той час існувала тільки у вигляді одного таких напрямків, що входили до складу цих наукових галузей та залежали від них, О.Я. Данилевський бачив у цих напрямках зародок майбутньої фундаментальної науки: фізіологічна хімія, як самостійна біологічна наука утворилася з хімічної частини фізіології, коли виявилось, що, з одного боку, чисто фізіологічний метод вивчення процесів в організмі залишає нерозібраними хімічні реакції і цілі процеси хімічних перетворень речовин всередині організму, з іншого боку –

чиста хімія... зовсім не торкається їх долі та ролі в процесах живого організму. Особливо сильно відчувалася недостатність фізіології і хімії, як швидко питання торкалися біології білкових речовин... Тим часом потреба найближчого ознайомлення з цими тілами у фізіології і в практичній медицині постійно зростала і зробилася настійною. Це положення спричинило до життя нову галузь – фізіологічну або, точніше, біологічну хімію, одну з найважливіших завдань якої складає біологія або біохімія білкових речовин" [14]. О.Я. Данилевський був одним із перших вчених у світі, які зайнялися дослідженнями саме біолого-хімічними, що стосуються глобальних закономірностей розвитку живої матерії (життєдіяльність організмів) на молекулярному рівні. Він отримав цікаві результати і зробив ряд дуже важливих відкриттів у найрізноманітніших галузях біологічної хімії. Недаремно цього вченого називають основоположником вітчизняної біохімії [4]. І хоч дослідженнями з практичної медичної хімії О.Я. Данилевський не займався, в навчальному процесі їй приділялася велика увага і практичні заняття студентів стосувалися "зоохімії, якісного і кількісного аналізу нормальних та патологічних рідин тваринного організму" [21].

Наукові дослідження з медичної хімії став проводити заступник О.Я. Данилевського по кафедрі – професор Т.І. Богомолів, який очолював кафедру медичної хімії Харківського університету з 1893 по 1897 рр. До цього він займався лікарською практикою та викладав у Санкт-Петербурзьській військово-медичній академії як приват-доцент на кафедрі приватної патології та терапії [18,29]. За складом характеру Т.І. Богомолів був лікарем-практиком, основним напрямком його наукових інтересів була практична медицина та діагностика. Значну увагу він приділяв клінічній біохімії, надаючи великого значення хімічним методам діагностики різноманітних патологій. Дослідження Т.І. Богомоліва були присвячені порівнюванню й удосконаленню великої кількості хімічних методів, які використовують у клініці для діагностичних цілей. Про це свідчать назви його статей: "Застосування фарб для розпізнавання різних видів білків і відмінності між ними", "Легкий спосіб отримання кристалів білірубину безпосередньо з жовчі", "Резорцин як реактив на білок і перевага його перед іншими білками", "Кольорові реакції для відкриття жовчі в сечі" [23, 24, 25]. Т.І. Богомолів займався не тільки науковою і викладацькою діяльністю, він був також редактором журналу "Сучасна клініка",



який виходив тоді у Харкові. Згідно з програмою цього журналу, в ньому публікувалися "оригінальні та перекладні лекції і статті переважно з клінічної терапії, а також бактеріології, фармакології, патологічної хімії і інших прикладних наук, що мають зв'язок з клінічною і практичною медициною" [31]. Значна частина робіт стосувалася медичної хімії: в них наводилася інформація про хімічний склад рідин організму (передусім сечі), речовини, характерні для певних захворювань, описувалися та порівнювалися нові методи визначення біологічних речовин (реактиви, фарвники тощо), давалися відомості про вплив на організм різних сполук та про механізми цього впливу. На ці теми підбирали реферати статтей зарубіжних авторів (Сальковського, Бекка, Бойда, Ріхтера, Роджера), а також роботи російських вчених, у тому числі учнів Т.І. Богомолова.

Під керівництвом Т.І. Богомолова деякі лікарі й студенти проводили власні дослідження, що стосувалися передусім саме медичної хімії. Потрібно згадати про докторські дисертації Е.Л. Мінас-Вартапетова і Л.К. Артамонова. Дисертація Е.Л. Мінас-Вартапетова була присвячена порівнянню відомих на той момент методів кількісного визначення сечової кислоти в сечі [32]. Автор порівнював точність цих способів на розчинах чистої сечової кислоти і безпосередньо на сечі. Виявилось, що деякі високочутливі методи при дослідженні сечі дають великі гріхи; популярний тоді метод аукрафта Е.Л. Вартапетов вважав непридатним для аналізів. Найвідповіднішим способом саме для досліджень сечі автор визнав метод Хопкінса, який в той час критикували. Л.К. Артамонов у своїй дисертації "До патології уробілінурії" вирішив вивчити уробілін – речовину, що зумовлює забарвлення сечі, а також її поступове потемніння під впливом світла, і при можливості з'ясувати клінічне значення уробілінурії, перевірити інформацію про джерела походження уробіліну та вивчити у тваринах його фізіологічну дію [1]. Отримані результати показали, що основним джерелом утворення уробіліну є білірубін жовчі, який у точці перетворюється в кишечнику в гідролірубін. За деяких умов джерелом походження уробіліну може бути гемоглобін, попередньо перетворений у гематоїдин, і в цьому випадку уробілінурія є ознакою крововиливу. Також відсутність уробіліну в сечі разом з хворобою печінки є показником атрофічного цирозу печінки. Для якісного визначення уробіліну в сечі Л.К. Артамонов визнав найкращим спосіб, запропонований Т.І. Бого-

молівим. Що стосується фізіологічної дії уробіліну, автор виявив, що на теплокровних тварин уробілін не впливає, а для холоднокровних є серцевою отрутою, якщо його вводити в кров.

Під керівництвом Т.І. Богомолова протягом декількох років працював талановитий молодий учений, лаборант кафедри медичної хімії – Н.І. Васильєв. Свою наукову діяльність Н.І. Васильєв почав на кафедрі загальної патології під керівництвом професора С.Д. Костюріна. Він досліджував вплив на живий організм токсинів, що утворюються внаслідок гниття м'яса без доступу кисню [6]. Екстракт рідини, яка гниє, спричиняв у тварин зниження температури і кров'яного тиску, посилювання пульсу, занепад серцевої діяльності, зниження кількості сечі й збільшення вмісту в ній сечовини і сечової кислоти та інші ефекти. Водночас Н.І. Васильєву вдалося виділити в чистому вигляді два токсини, які виявляють протилежну дію на нервову систему, та описати їх властивості.

Лаборантом на кафедрі медичної хімії Н.І. Васильєв був призначений у 1894 р., відразу ж він приступив до інтенсивної наукової роботи. Його дослідження мали прикладний характер. Їх метою були порівняння й оцінювання способів визначення різних компонентів сечі в нормі й при патології і пошук оптимальних для клінічних досліджень хімічних методів. Н.І. Васильєв цікавився такими методами, як визначення вмісту сечовини [26], виявлення білка в сечі у разі патології [7], дослідження шлункового соку і визначення в ньому соляної кислоти [8]. Разом з Т.І. Богомолівим Н.І. Васильєв вивчав способи визначення пептону в сечі й запропонував свій більш точний спосіб [2]. Дослідженню способів визначення білка в сечі була присвячена його докторська дисертація – велика, фундаментальна робота, де автор найретельнішим чином досліджував усі відомі на той час методи визначення білка в сечі й просто якісні та кількісні реакції на білок, порівнював їх позитивні якості та недоліки і дав вичерпну оцінку можливості їх використання при дослідженні сечі. Оскільки кожний з розглянутих ним способів мав свої недоліки, Н.І. Васильєв запропонував новий спосіб визначення білка в сечі [9]. Крім дослідження клінічних методів, він проводив дослідження в галузі патологічної хімії. Так, він порівнював кислотність сечі за різними дієтами [23, с.25], а також опублікував роботу "До питання про уремію", де визначав вміст води у тканинах в нормі й при уремії [5].



Після смерті Т.І. Богомолова в 1897 р. Н.І. Васильєв – тоді вже приват-доцент – був призначений на посаду керівника кафедри медичної хімії. Як керівник кафедри він виїжджає за кордон, де працює в лабораторії професора А. Коссея у Марбурзі. Під його впливом Н.І. Васильєв зайнявся фундаментальними дослідженнями, що стосуються вивчення властивостей нуклеїнових кислот і гістонів, їх вмісту в різних органах і методів виділення, а також продуктів гідролізу нуклеїнових кислот [10, 27].

У 1899 р. Н.І. Васильєв остаточно виїхав у закордонне відрядження, а на посаду професора кафедри медичної хімії був запрошений приват-доцент Московського університету В.С. Гулевич. У Харкові він працював майже два роки, саме тут були закладені основи всіх напрямків наукової діяльності цього видатного вченого, згодом академіка [18]. Відразу ж після свого призначення В.С. Гулевич розпочав інтенсивну наукову і педагогічну роботу. І якщо його власні наукові дослідження були мало пов'язані саме з медичною хімією, то цього не можна сказати про роботу на кафедрі взагалі. У ці роки дослідження на кафедрі медичної хімії проводилися спільно з дослідженнями на інших кафедрах медичного факультету: фізіології, загальної патології, судової медицини. Так, у лабораторії медичної хімії під керівництвом В.С. Гулевича була виконана докторська дисертація Н.С. Бокаріуса "Кристали Florence'a, їх хімічна природа і судово-медичне значення" [3]. Згодом професор Н.С. Бокаріус зайняв посаду завідуючого кафедрою судової медицини Харківського університету і став організатором Харківського науково-дослідного інституту судових експертиз (1924 р.), який зараз носить його ім'я. Під керівництвом В.С. Гулевича проводилися і дослідження з клінічної хімії, наприклад лікаря А.П. Браунштейна щодо способів визначення сечовини у сечі [28].

У навчальному процесі вивченню медичної хімії В.С. Гулевич приділяв значну увагу. Величезного значення він надавав практичним заняттям студентів "за відділами медичної хімії, що мають найбільше значення для практичної медицини" [21]. Ці заняття полягали в ознайомленні з "найголознішими методами якісного і кількісного аналізу сечі та дослідженні шлункового соку" [21]. Саме для таких практикумів В.С. Гулевич написав підручник – "Аналіз сечі" [13]. Це був один з найкращих посібників з практичної медичної хімії, згодом його декілька разів перевидавали. У ньому автор наводить вичерпні дані – для свого часу –

про кількісний і якісний склад сечі в нормі й при різних патологіях. Описує найкращі на той час способи визначення відповідних хімічних сполук у сечі. Але ця книга була не тільки підручником з аналізу сечі, але й являла собою незамінний посібник для біохіміка-початківця. У ній детально описано найважливіші лабораторні прилади та посуд (бюретки, піпетки, терези, повітряні бані, поляриметри, "центробіжні машини") і правила їх експлуатації, наведено основні відомості з кількісного аналізу, детально розглянуто основні аналітичні процедури, такі, як зважування, фільтрування тощо. Сам автор у передмові підкреслював необхідність ознайомлення з цією книгою кожного, хто бажає займатися біохімічними дослідженнями.

Після В.С. Гулевича кафедру медичної хімії Харківського університету очолили два професори: Д.І. Кураєв і Р.П. Крїмберг. За них дослідження в галузі прикладної медичної хімії не проводилося. Д.І. Кураєв цікавився проблемами розпаду і синтезу білків в організмі; наукова діяльність на кафедрі під його керівництвом проводилася в основному лаборантом В.Д. Маленюком, який досліджував хімічний склад деяких білків [18]. Що стосується педагогічної діяльності Д.І. Кураєва, то не можна не згадати про написаний ним підручник "Фізіологічна хімія", виданий у 1911 р. [20]. За складом його можна поділити на 2 частини: в першій представлені будова та класифікація основних біологічних речовин (білків, жирів, вуглеводів), а також інформація про ферменти; у другій частині розповідається про хімічний склад і функції різних органів (печінки, шлунка, кишечника) і рідин організму (крові, лімфи, шлункового і панкреатичного соку, сечі). У підручнику наведено відомі на той час дані про хімію таких фізіологічних процесів, як травлення, дихання, виділення, а також про хімічні зміни в разі деяких патологічних процесів. Таким чином, медична частина біохімії займає значне місце в матеріалі цього підручника. Що стосується досліджень Р.П. Крїмберга, то вони були пов'язані з роботами його вчителя В.С. Гулевича і стосувалися до вивчення функцій екстрактивних азотистих речовин в організмі – карнозину і карнітину, зокрема розглядалася можливість їх дії в організмі як гормонів [18]. Яких-небудь значних змін у характері викладання медичної хімії в цей час не спостерігали.

Таким чином, на основі наведених даних про розвиток біохімії в Харківському університеті в XIX-на початку XX ст. можна зробити висновок, що взаємодія хімії та медицини



чно просунула вперед рівень знань у галузі хімії і була необхідним кроком на шляху розвитку біохімії як єдиної самостійної науки. У галузі викладання біохімії на медичних факультетах саме на вивчення медичної хімії

робили головний натиск. Відносно розвитку власне медичної хімії, слід зазначити її значний вплив на розвиток медичних наук і сучасний стан як загальної, так і клінічної біохімії [11].

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Артамонов Л.К. К патологии уробилинурии: Диссертация д-ра мед. наук. – Харьков, 1898. – 43 с.
2. Богомолов Т.И., Васильев Н.И. К вопросу об уробилине в моче // Ежемесячный журнал "Практическая медицина". – 1896. – № 47. – С. 645-646.
3. Бокариус Н.С. Кристаллы Florence'a, их химическая природа и судебно-медицинское значение: Диссертация д-ра мед. наук. – Харьков, 1902. – 163 с.
4. Буланкин И.Н. Основатель отечественной биохимии Александр Яковлевич Данилевский. – Харьков, 1953 г. – 36 с.
5. Буланкин И.Н., Утевский А.М. Очерк развития органической химии в Харьковском государственном университете и в медицинском институте // Ученые записки Харьковского университета. – 1955. – № 59. – С. 41-79.
6. Васильев Н.И. К вопросу о влиянии на животный организм гнилостных веществ, развившихся в отсутствие кислорода // Современная клиника. – 1905. – № 2. – С. 40-43.
7. Васильев Н.И. Реферат работы Lieblein'a "О влиянии на нуклеоальбумин, общих с другими белками" // Там же – № 6-7. – С. 18-22.
8. Васильев Н.И. Hexamethylpararosanilin как актив на соляную кислоту в желудочном соке // Там же. – № 10-12. – С. 73-80.
9. Васильев Н.И. Материалы для сравнительной оценки способов качественного и количественного определения белка в моче применительно к различным целям. Новый способ количественного определения белка в моче: Диссертация д-ра мед. наук. – Харьков, 1896. – 85 с.
10. Васильев Н.И. Получение нуклеогистона, гистона и нуклеина из различных органов // Ежемесячный журнал "Практическая медицина". – 1898. – № 39. – С. 705-709.
11. Гонський Я.І. Сучасний стан і перспективи розвитку медичної хімії в найближчі десятиліття // Медична хімія. – 1999. – 1, № 1. – С. 15-18.
12. Гоппе-Зейлер Ф. Физиологическая химия. – Пб., 1895. – 453 с.
13. Гулевич В.С. Анализ мочи. Руководство при практических занятиях в лаборатории. – Харьков, 1901. – 214; VII с.
14. Данилевский А.Я. Очерк органово-пластических сил организмов. – Харьков, 1886. – 41 с.
15. Извлечение из отчета о состоянии и деятельности Харьковского императорского университета за 1865 г. – Харьков, 1866. – 19 с.
16. Извлечение из отчета о состоянии и деятельности Харьковского императорского университета за 1866 г. – Харьков, 1867. – 39 с.
17. Извлечение из отчета о состоянии и деятельности императорского Харьковского университета за 1881 г. // Записки императорского Харьковского университета. – 1882. – 1. – Ч. неофиц. – С. 1-28.
18. Калиман П.А., Чернышенко А.А. Становление и развитие биохимии в императорском Харьковском университете // Украинский биохимический журнал. – 2000. – 72. – № 1. – С. 126-140.
19. Кремьянский Я.С. Сообщение о результатах опытов над влиянием салициловой кислоты на консервирование мясных и хлебно-мясных препаратов // Записки императорского Харьковского университета. – 1878. – 1. – Ч. офиц. – Ученые общества при университете. – С. 21-22.
20. Кураев Д.И. Физиологическая химия. – Харьков, 1911. – 122 с.
21. Медицинский факультет Харьковского университета за первые сто лет его существования. – Харьков, 1905-1906. – 806 с.
22. Музрукова Е.Б. Химия и биология в истории изучения клетки // Историко-биологические исследования. – 1983. – Вып. 9. – С. 51-65.
23. Отчет о состоянии и деятельности Харьковского университета за 1894 г. // Записки императорского Харьковского университета. – 1895. – Ч. офиц. – Кн. 2. – С. 1-184.
24. Отчет о состоянии и деятельности Харьковского университета за 1895 г. // Там же. – 1896. – Ч. офиц. – Кн. 2. – С. 17-196.
25. Отчет о состоянии и деятельности Харьковского университета за 1896 г. // Там же. – 1897. – Ч. офиц. – Кн. 2. – С. 17-208.
26. Отчет о состоянии и деятельности Харьковского университета за 1897 г. // Там же. – 1898. – Ч. офиц. – Кн. 2. – С. 19-122.
27. Отчет о состоянии и деятельности Харьковского университета за 1898 г. // Там же. – 1899. – Ч. офиц. – Кн. 2. – С. 13-210.
28. Отчет о состоянии и деятельности Харьковского университета за 1900 г. // Там же. – 1901. – Ч. офиц. – Кн. 2. – С. 17-187.
29. Протоколы заседаний конференции императорской Военно-медицинской академии за 1892-1893 учебный год. – С.Пб., Воен. тип., 1894. – 651 с.
30. Словцов Б.И. Учебник физиологической химии. – Петроград, 1914. – 386 с.
31. Современная клиника / Под ред. Т.И. Богомолова. – Харьков, 1894-1896.
32. Сообщение о защите докторской диссертации Е.Л. Минас-Вартопетовым "Сравнительная оценка способов количественного определения



мочевой кислоты в моче" // Записки императорского Харьковского университета. – 1897. – Кн. 3. – Ч. неофиц. – Летопись Харьковского университета. – С. 7-11.

33. Тихонович Ф.В. Источники образования углеводов в организме животных и вне его: Дисс... д-ра мед наук. – Харьков, 1866. – 128 с.

34. Тихонович Ф.В. О салициловой кислоте // Записки императорского Харьковского университета. – 1878. – 4. – Ч. неофиц. – Протоколы медиц. секции Общества опытных наук. – С. 7-8.

35. Университетский устав 1863 г. – С.Пб., 1863. – 128 с.

36. Физико-математический факультет Харьковского университета за первые сто лет его существования. – Харьков, 1908. – 625 с.

37. Ходнев А.И. Курс физиологической химии, читанной в Харьковском университете адъюнктом А. Ходневым. – Харьков, 1847. – 271 с.

38. Шамин А.Н. История биологической химии. Истоки науки. – М., 1990. – 389 с.

39. Шамин А.Н. История биологической химии: формирование биохимии. – М., 1993. – 262 с.

## РАЗВИТИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ В ИМПЕРАТОРСКОМ ХАРЬКОВСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

П.А. Калиман, А.А. Чернышенко.  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА

### Резюме

В статье содержится информация о развитии в Харьковском университете в XIX-начале XX стол. исследований по медицинской химии – науке, которая тогда являлась составной частью физиологической химии (предшественницы современной биохимии), касающейся тех знаний химического состава тканей и жидкостей организма, которые непосредственно использовались во врачебной практике. Преподавание и научная деятельность по медицинской химии в Харьковском университете проводили на кафедре медицинской химии медицинского факультета, основанной в 1865 г. Тогда на кафедрах с таким названием сосредотачивались научные исследования не только по медицинской химии, но почти по всем тем научным направлениям (физиологическая химия, зоохимия), которые привели к образованию биологической химии в начале XX ст. Показано, что каждый из руководителей кафедры занимался в основном одним из таких направлений, в зависимости от его образования и научных интересов. В Харьковском университете работали такие выдающиеся биохимики, как А.Я. Данилевский и В.С. Гулевич. Они, однако, занимались не прикладной медицинской химией, а теоретическими биохимическими проблемами, хотя в учебном процессе основное внимание уделяли именно медицинской химии. Исследованиями по клинической медицинской химии проводили такие ученые, как Т.И. Богомолов и Н.И. Васильев. Большое внимание в статье уделяется не только развитию научных исследований, но и постановке учебного процесса и педагогической деятельности профессором кафедры.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: история науки, медицинская химия, биохимия, Харьковский университет.

## THE DEVELOPMENT OF MEDICAL CHEMISTRY AT KHARKIV IMPERIAL UNIVERSITY

P.A. Kaliman, A.A. Chernyshenko  
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN

### Summary

Article contains an information about development of medical chemistry – a science that was a composing part of physiological chemistry (a predecessor of modern biochemistry) dealing with such data of chemical structure organism tissues and liquids that were used in medical practice – in Kharkiv university in XIX-at the beginning of XX cent. Teaching and scientific researches on medical chemistry took place in Kharkiv university at the chair of medical chemistry of medical department founded in 1865 at that time on such chairs scientific researches were concentrated not only on medical chemistry, but on almost all scientific directions (physiological chemistry, zoochemistry) that gave rise to the formation of biological chemistry at the beginning of XX cent. It is shown that each chair leader mainly attended to one of such directions, depending on his education and scientific interests. In Kharkiv university such remarkable biochemists as A. Danilevsky and V.S. Hulevych worked; they, however, attended not to applied medical chemistry but to theoretical biochemical problems, although in educational process a basic attention was spared just to medical chemistry. Researches on clinical medical chemistry were carried out by such scientists as T. Bogomolov and N. Vasilyev. In the article a great attention is spared not only to development of scientific researches, but to formulation of educational process and to pedagogic activity of the chair professors too.

KEY WORDS: history of science, medical chemistry, biochemistry, Kharkiv university.

Отримано 30.03.2000 р.