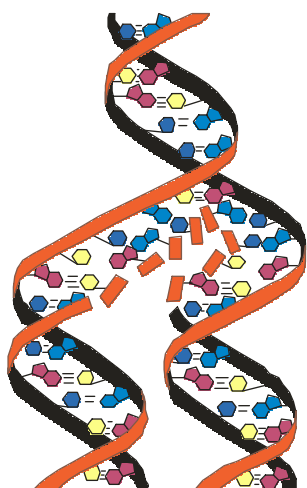


Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук національного прогресу

МЕДИЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*Academy of Medical Sciences of Ukraine
Ternopil State Medical Academy by I.Ya. Horbachevsky
National Medical University by O.O. Bogomolets
Ukrainian Academy of Sciences of National Progress*

MEDICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

1 TOM 3
2001

- ❖ *Молекулярні механізми розвитку патології*
- ❖ *Біохімія у діагностиці та лікуванні*
- ❖ *Біохімія серцево-судинних хвороб*
- ❖ *Біохімічна гепатологія та нефрологія*
- ❖ *Біохімія ендокринних хвороб*
- ❖ *Патохімія спадкових хвороб*
- ❖ *Патохімія екстремальних станів*
- ❖ *Біохімія в хірургічній клініці*
- ❖ *Нейрохімія та патохімія головного мозку*
- ❖ *Імунохімія*
- ❖ *Біохімія радіаційних уражень*
- ❖ *Біохімічні аспекти моделювання патологічних процесів*
- ❖ *Ксенобіохімія*
- ❖ *Методи біохімічних досліджень*
- ❖ *Історія біохімії*
- ❖ *Проблеми і досвід викладання біологічної та медичної хімії*
- ❖ *Інформація, хроніка, ювілеї*

- ❖ *Molecular Mechanisms of Pathology Development*
- ❖ *Biochemistry in Diagnostics and Treatment*
- ❖ *Biochemistry of Cardiovascular Diseases*
- ❖ *Biochemical Hepatology and Nephrology*
- ❖ *Biochemistry of Endocrinopathy*
- ❖ *Patochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Patochemistry Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Patochemistry of Cerebrum*
- ❖ *Immunochemistry*
- ❖ *Biochemistry of Radiation Injuries*
- ❖ *Biochemical Aspects of Simulation of Pathologic Processes*
- ❖ *Xenobiochemistry*
- ❖ *Methods of biochemical Investigations*
- ❖ *History of Biochemistry*
- ❖ *Problems and Experience of Biological and Medical Chemistry Teaching*
- ❖ *Information, Chronicle, Jubilees*

МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

Виходить з 1999 року

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія KB № 3647

Передплатний індекс: 22869

Відповідно до постанови президії ВАК України від 09.06.1999 р. № 1-05/7 журнал "Медична хімія" внесений до переліку фахових видань, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата медичних, фармацевтичних і біологічних наук.

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

Журнал "Медична хімія"
Видавництво "Укрмедкнига"
Майдан Волі, 1
46001, м. Тернопіль
УКРАЇНА

Тел.: (0352) 22-97-29
(0352) 25-47-84

Fax: (0352) 22-41-83

E-mail: korda@tdma.ssft.ternopil.ua
<http://tdma.ssft.ternopil.ua/journals>

За зміст рекламних матеріалів відповідальність несе рекламодавець. При передруці або відтворенні повністю чи частково матеріалів журналу "Медична хімія" посилання на журнал обов'язкове.

© Науковий журнал "Медична хімія"

Зміст

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Каліман П.А., Нікітченко І.В., Сокол О.А., Стрельченко К.В.* ВПЛИВ АНТИОКСИДАНТІВ НА ГЕМОКСИГЕНАЗНУ АКТИВНІСТЬ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ ОКСИДАТИВНОМУ СТРЕСІ, ЯКИЙ ВИКЛИКАНО ВВЕДЕННЯМ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ І ХЛОРИДУ РТУТІ 5
- Бойцова Л.В., Данова І.В., Кулик Г.І., Чехун В.Ф.* СТАН ТІОЛОВОЇ СИСТЕМИ ТА ГЛУТАТІОНЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ІЗ ПЕРЕВИВНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА 12
- Гонський Я.І., Ястремська С.О.* ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ПОРУШЕННЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНОСТІ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧУВАЛЬНИХ ФЕРМЕНТІВ ПРИ КАДМІЄВІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ 16
- Бразко О.А., Омелянчук Л.О., Беленічев І.Ф., Шестакова І.Ф., Завгородній М.П.* ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ 4-ТІОПХІДНИХ ХІНОЛІНУ 20
- Бобровник А.Д., Шкаволяк А.В., Гринчишин Н.М., Манченко А.В.* ВПЛИВ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ НА АКТИВНІСТЬ Na/K/Cl-КОТРАНСПОРТУ ТА Na/Li-ПРОТИТРАНСПОРТУ В БЕТА-КЛІТИНАХ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРА 24
- Сахарова І.Є.* СТАН ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВОГО ОБМІНУ ТА ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ В ДІТЕЙ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 28
- Покидько М.І.* ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ТКАНИННОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМІНОГЕНА МЕЗОТЕЛІЮ ОЧЕРЕВИНИ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ СПАЙКОВОГО ПРОЦЕСУ 32
- Федів О.І.* АКТИВНІСТЬ ЛІЗОСОМАЛЬНИХ ГІДРОЛАЗ ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБИ (ПЕПТИЧНІЙ ВИРАЗЦІ) ШЛУНКА І ДВНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ У ХВОРИХ РІЗНОГО ВІКУ 36
- Лизин М.А., Клименко А.О., Гудивок І.І., Стоцький С.С., Пахаренко Л.В.* РОЛЬ ЦИНКУ В ЕТІОПАТОГЕНЕЗІ ЗАТРИМКИ ВНУТРІШНЬО-УТРОБНОГО РОЗВИТКУ І РОСТУ ПЛОДА 41
- Герасимова О.О.* ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НА ПРОЦЕСИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ НОВОГО ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ПІФЛАМІНУ 44

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

- Саатов Т.С., Зуфаров П.С., Якубов А.В.* ВПЛИВ КОРДІАМІНУ І БЕМЕГРИДУ НА МОНООКСИГЕНАЗНУ ФЕРМЕНТНУ СИСТЕМУ ЛЕГЕНЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ НЕСПЕЦИФІЧНОМУ ЗАПАЛЬНОМУ ЗАХВОРЮВАННІ ЛЕГЕНЬ 48

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Kaliman P.A., Nikitchenko I.V., Sokol O.A., Strelchenko E.V.* EFFECT OF ANTIOXIDANTS ON HEME OXYGENASE ACTIVITY IN THE RAT LIVER DURING THE OXIDATIVE STRESS CAUSED BY MERCURY CHLORIDE AND COBALT CHLORIDE 5
- Boitsova L.V., Danova I.V., Kulik G.I., Chekhun V.F.* STATE OF THIOL SYSTEM AND GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES IN RAT TISSUES WITH INOCULATED GUERIN CARCINOMA 12
- Honsky Ya.I., Yastremska S.A.* AGE PECULIARITIES OF THE DISTURBANCES OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES AND ACTIVITY OF SOME MITOCHONDRIAL ENZYMES AT CADMIUM INTOXICATION 16
- Brazhko A.A., Omelyanchuk L.A., Belenichev I.F., Shestakova I.S., Zavgorodny M.P.* INVESTIGATIONS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY 4-THIOQUINOLINES 20
- Bobrovnyk A.D., Shkavolyak A.V., Hrynchyshyn N.M., Manchenko A.V.* EFFECT OF OSMOTIC STRESS ON ACTIVITY OF Na/K/Cl-COTRANSPORT AND Na/Li-COUNTERTRANSPORT IN RAT PANCREATIC BETA-CELLS 24
- Sakharova I.Ye.* PHOSPHORIC-CALCIUM METABOLISM AND SOME BIOCHEMICAL MARKERS OF BONE METABOLISM IN CHILDREN WITH DIABETES MELLITUS 28
- Pokydko M.I.* STUDY OF THE ACTIVITY OF PERITONEAL MESOTHELIAL PLASMINOGEN TISSUE ACTIVATOR AT COMMISURE PROCESS MODELLING 32
- Fediv O.I.* THE ACTIVITY OF LYSOSOMAL HYDROLASES IN PEPTIC ULCER OF THE STOMACH AND DUODENUM IN PATIENTS OF DIFFERENT AGE 36
- Lyzyn M.A., Klymenko A.O., Hudyvok I.I., Stotsky S.S., Pakharenko L.V.* ROLE OF ZINC IN AETHIOPATHOGENESIS OF INTRAUTERINE FETAL DEVELOPMENT AND GROWTH DELAY 41
- Gerasimova O.A.* AN EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE EFFECT OF A NEW HEPATOPROTECTOR PIFLAMIN ON THE FREE RADICAL OXIDATION PROCESSES 44

BRIEF REPORTS

- Saatov T.S., Zufarov P.S., Yakubov A.V.* EFFECT OF CORDIAMINE AND BEMEGRIDE ON PULMONARY MONOOXYGENASE ENZYMATIC ACTIVITY AT EXPERIMENTAL CHRONIC PULMONARY INFLAMMATORY DISEASE 48

<i>Шаповалов В.В., Губський Ю.І., Шаповалова В.О.</i> СУДОВІ ХІМІКО-ФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ У ПАТОМОРФО-ЛОГІЧНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ НОВОГО СИЛЬНОДІЮЧОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ В ДОКЛІНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ	47	<i>Shapovalov V.V., Gubsky Y.I., Shapovalova V.A.</i> FORENSIC CHEMICAL AND HARMACEUTICAL ASPECTS OF PATHOMORPHOLOGICAL RESEARCH OF NEW DRASTIC MEDICINE IN PRECLINICAL EXPERIMENT
<i>Франчук О.А.</i> ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ВОБЕНЗИМУ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ГЕСТАЦІЙНИХ ПІЄЛОНЕФРИТІВ	50	<i>Franchuk O.A.</i> EFFICIENCY OF WOBENZYM IN THE COMPLEX THERAPY OF GESTATIONAL PYELONEPHRITIS
<i>Горішна О.В., Горішний Б.М.</i> КОМБІНОВАНА ДІЯ ТРИВАЛОГО ДРОБНОГО ГАММА-ОПРОМІ- НЕННЯ І ХРОНІЧНОЇ НІТРАТНОЇ ІНТОКСИ- КАЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ПРООКСИДНО- АНТИОКСИДНУ СИСТЕМУ ПЕЧІНКИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКОВОГО АСПЕКТУ	53	<i>Horishna O.V., Horushny B.M.</i> COMBINED INFLUENCE OF THE PROLONGED FRACTIO- NAL GAMMA-IRRADIATION AND CHRONIC NITRATE INTOXICATION IN EXPERIMENT ON PROOXIDE-ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE LIVER IN DEPENDANCE OF THE AGE ASPECT
<i>Борейко Л.Д., Мещишен І.Ф., Николаєнко О.М.</i> ВПЛИВ ЕРБІСОЛУ НА СТАН АНТИОКСИД- НОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗУ	56	<i>Boreiko L.D., Meshchysheh I.F., Nykolaienko A.N.</i> THE INFLUENCE OF ERBISOL ON THE STATE OF THE ORGANISM ANTIOXIDANT PROTEC- TION UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL OSTEOARTHRISIS
<i>Локай Б.А., Стародуб Є.М.</i> ВМІСТ АДЕНІННУК- ЛЕОТИДІВ І ФОРМА ЕРИТРОЦИТІВ У КРОВІ ХВОРИХ, ОТРУЄНИХ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ	59	<i>Lokai B.A., Starodub Ye.M.</i> THE CONTENTS OF ADENINE NUCLEOTIDES AND FORM OF ERYTHROCYTES IN BLOOD OF THE PATIENTS WITH AMANITA PHALLOIDES POISONING
<i>Яценко О.В., Брюзгіна Т.С., Фартушок Н.В.</i> ГАЗОХРОМАТОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ ЛІПІДІВ КРИСТАЛИКІВ ТА СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ВІКОВІЙ КАТАРАКТІ	62	<i>Yatsenko O.V., Bryuzgina T.S., Fartushok N.V.</i> GAS-CHROMATOGRAPHIC TEST OF LENSES AND BLOOD SERUM LIPIDS AT AGE CATARACT
<i>Кургалюк Н.М., Серебровська Т.В.</i> ВПЛИВ ІНТЕРВАЛЬНИХ ГІПОКСИЧНИХ ТРЕНУВАНЬ НА АНТИОКСИДНУ СИСТЕМУ І ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ ДІЇ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ І ДОНОРА ОКСИДУ АЗОТУ	65	<i>Kurhalyuk N.M., Serebrovskaya T.V.</i> THE INFLUENCE OF INTERMITTENT HYPOXIA ON ANTIOXIDANT SYSTEM, LIPID PEROXIDATION AT ACUTE HYPOXIA AND DONOR NITRIC OXIDE EFFECT
<i>Андрейчин С.М.</i> МЕДИКАМЕНТОЗНА КОРЕКЦІЯ ВМІСТУ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ ТА ФАГОЦИТАРНОЇ АКТИВНОСТІ ЛЕЙКОЦИТІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ КОЛІТІ	68	<i>Andreichyn S.M.</i> MEDICAMENTOUS CORRECTION OF CONTENT OF IMMUNE COMPLEXES AND PHAGOCYTTIC ACTIVITY OF LEUKOCYTES AT CHRONIC COLITIS
<i>Мишалов В.Г., Брюзгіна Т.С., Теслюк І.І.</i> ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ХВОРИХ, ЯКІ ПОТРЕБУЮТЬ ОПЕРАТИВНИХ ВТРУЧАНЬ ІЗ ПРИВОДУ ЖОВЧНОКАМ'ЯНОЇ ХВОРОБИ	71	<i>Mishalov V.G., Bryuzgina T.S., Teslyuk I.I.</i> FATTY ACID COMPOSITION OF SERUM LIPIDS IN SURGICAL PATIENTS WITH CHOLELITHIASIS
ОГЛЯДИ		REVIEWS
<i>Дивоча В.А., Микелашвілі М.Т., Михальчук В.Н.</i> РОЛЬ ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМИ КЛІТИНИ-ГОСПОДАРЯ НА РАННІХ СТАДІЯХ РОЗВИТКУ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ	74	<i>Dyvocha V.A., Mikelashvili M.T., Mykhalchuk V.N.</i> THE ROLE OF PROTEOLYTIC SYSTEM OF THE CELL-HOST AT THE EARLY STAGES OF THE VIRAL INFECTION DEVELOPMENT

УДК 577.15:546.492+546.732

ВПЛИВ АНТИОКСИДАНТІВ НА ГЕМОКСИГЕНАЗНУ АКТИВНІСТЬ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ ОКСИДАТИВНОМУ СТРЕСІ, ЯКИЙ ВИКЛИКАНО ВВЕДЕННЯМ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ І ХЛОРИДУ РТУТІ

П.А. Каліман, І.В. Нікітченко, О.А. Сокол, К.В. Стрельченко
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА

Вивчено активність гемоксигенази, триптофан-2,3-діоксигенази, вміст цитохрому Р-450 в печінці щурів і спектр поглинання сироватки крові в Soret-області й при 280 нм через 2 і 24 год після введення $HgCl_2$ і $CoCl_2$, а також спільного введення α -токоферолу або білірубину і солі металу. Після введення $HgCl_2$ і $CoCl_2$ спостерігаються підвищення вмісту продуктів гемолізу в сироватці крові, індукція гемоксигенази і зниження вмісту цитохрому Р-450 в печінці. Активність холоферменту і насичення триптофан-2,3-діоксигенази гемом після введення $HgCl_2$ підвищуються, а після введення $CoCl_2$ – знижуються. Попереднє введення α -токоферолу повністю, а білірубину частково, запобігає змінам, що спостерігаються за добу після введення солі ртуті. Антиоксиданти не блокують індукцію гемоксигенази $CoCl_2$, хоч частково нормалізують рівень продуктів гемолізу в сироватці крові, активність холоферменту триптофан-2,3-діоксигенази і вміст цитохрому Р-450. Обговорено механізми регуляції гемоксигенази іонами ртуті й кобальту та антиоксидну дію α -токоферолу і білірубину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемоксигеназа, триптофан-2,3-діоксигеназа, хлорид ртуті, хлорид кобальту, α -токоферол, білірубін, оксидативний стрес.

ВСТУП. Надходження до організму токсичних сполук, таких, як солі важких металів, викликає активацію процесів вільнорадикального окислення, що зумовлює розвиток оксидативного стресу [5, 27]. Одним із показників оксидативного стресу є індукція гемоксигенази-1 – індукцибельної ізоформи ключового ферменту деградації гемму [20]. Гемоксигеназа (ГО) (КФ 1.14.99.3) здійснює деградацію гемму з утворенням монооксиду вуглецю, вільного заліза і білівердину IX α . Останній відновлюється до білірубину в реакції, яку каталізує білівердинредуктаза. На сьогодні відомо щонайменше дві ізоформи ГО, які є продуктами різних генів. У печінці є обидва ізоферменти – індукцибельний (ГО-1) і конститутивний (ГО-2) – у співвідношенні 1:2. Індукція ГО-1 призводить до зменшення в клітинах вмісту вільного гемму, який є активним прооксидантом [13], і накопичення природного антиоксиданта білірубину, що здатний бути ефективною пасткою для активних форм кисню [26]. Іони важких металів, як і гем, збільшують активність ГО-1 на транскрипційному рівні [4, 7, 19], в основному за рахунок активації ряду транскрипційних фак-

торів [10, 17]. Крім того, відомо, що деякі транскрипційні фактори, які посилюють експресію гена ГО-1, активуються активними формами кисню [10]. У зв'язку з цим, метою даної роботи було дослідження активності ГО, активності й вмісту деяких гемопротейнів і гемзв'язуючих білків у печінці та сироватці крові щурів при введенні $HgCl_2$, $CoCl_2$, а також при сумісному введенні солей металів і антиоксидантів α -токоферолу та білірубину.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Білим щурам лінії Wistar масою тіла 50-180 г вводили $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ під шкіру (3 мг/100 г), $HgCl_2$ – внутрішньочеревинно (0,7 мг/100 г). Антиоксиданти вводили за 2 год до ін'єкції солі металу: α -токоферол – внутрішньом'язово (5 мг/100 г), білірубін – внутрішньочеревно (2,3 мг/100 г). Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм 0,9 % NaCl. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом через 2 та 24 год після введення солі металу. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином *in situ*.

Гемоксигеназну активність визначали в гомогенаті печінки [25]. Активність ферменту розраховували за кількістю білірубину, що утво-

© П.А. Каліман – д.б.н., проф., І.В. Нікітченко, О.А. Сокол, К.В. Стрельченко, 2001.

рився, з використанням молярного коефіцієнта поглинання $4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ і виражали в пмоль білірубину/хв на 1 мг білка.

Триптофан-2,3-діоксигеназу (Тр-2,3-ДО) активність (КФ 1.13.11.11) визначали в гомогенаті печінки за кількістю кінуреніну, що утворився з L-триптофану [11]. Активність холоферменту Тр-2,3-ДО розраховувати при відсутності, а загальну активність – у присутності екзогенного геміну в середовищі інкубації. Активність ферменту виражали в нмоль кінуреніну/год на 1 мг білка. Насичення Тр-2,3-ДО гемом оцінювали за співвідношеннями активності холоферменту до загальної активності й виражали у відсотках [29].

Вміст цитохрому Р-450 визначали в гомогенаті печінки методом диференційної спектрофотометрії [22] і виражали в нмоль на 1 мг білка, використовуючи молярний коефіцієнт поглинання $104 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Накопичення продуктів гемолізу і вміст гемопексину оцінювали за різницею оптичної густини (ΔA) сироватки крові в Soret-області (390-450 нм) і при 280 нм відповідно та виражали в $\Delta A/\text{мг}$ білка [28].

Вміст гаптоглобіну визначали, як описано в роботі [9], і виражали в мг/мл сироватки крові.

Інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), що індукується аскорбатом, у гомогенаті печінки визначали в середовищі, що містило 100 мМ Tris-HCl буфер, рН-7,4, 0,5 мМ аскорбат. ТБК-активні продукти оцінювали, як описано в роботі [1], і виражали в нмоль МДА/мг білка за 10 хв інкубації, використовуючи молярний коефіцієнт поглинання $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Вміст білка визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [23]. Статистичну обробку проводили непараметричним тестом Манна-Уїтні [2].

У роботі використано такі реактиви: Tris, L-триптофан, NADP виробництва "Reanal" (Угорщина), глюкозо-6-фосфат, глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа фірми "Sigma" (США), інші реактиви вітчизняного виробництва (марки ч.д.а.).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Активність ГО підвищується через 24 год після введення HgCl_2 і CoCl_2 (рис. 1). Збільшення активності ГО після введення солей важких металів пов'язане з активацією синтезу ферменту *de novo*. Механізми індукції ГО-1 іонами металів до кінця не з'ясовано. Відомо, що іони деяких металів, наприклад кобальту, можуть включатися ферохелатазою (фермен-

том, який каталізує останню реакцію синтезу гему) в кільце протопорфірину IX замість іонів заліза з утворенням Со-протопорфірину (Со-pp), що є індуктором ГО [19]. Разом із тим, іони інших металів, у тому числі й іони ртуті, які не включаються в протопорфіринове кільце ферохелатазою, також індукують ГО [18]. Можливо, індукція ГО-1 при дії іонів цих металів здійснюється за рахунок підвищення рівня вільного гему в клітині.

Як показник рівня вільного гему в клітинах печінки використовували насичення гемом цитозольного білка Тр-2,3-ДО [19]. Через 2 год після введення HgCl_2 в печінці щурів збільшується як активність холоферменту, так і насичення гемом Тр-2,3-ДО (табл. 1). Загальна активність ферменту не змінюється. Останнє свідчить про те, що підвищення насичення ферменту гемом зумовлено збільшенням кількості вільного гему без зміни рівня апобілка Тр-2,3-ДО. В умовах оксидативного стресу існує декілька джерел поповнення пулу вільного гему в печінці, в тому числі за рахунок гему внутрішньоклітинних гемопротейнів, що пошкоджені вільними радикалами, та за рахунок гемолізу еритроцитів і надходження гему з кров'яного русла. Відомо, що іони важких металів при надходженні до кров'яного русла викликають гемоліз еритроцитів [14]. За нашими даними, оптична густина сироватки крові щурів у Soret-області через 2 год після

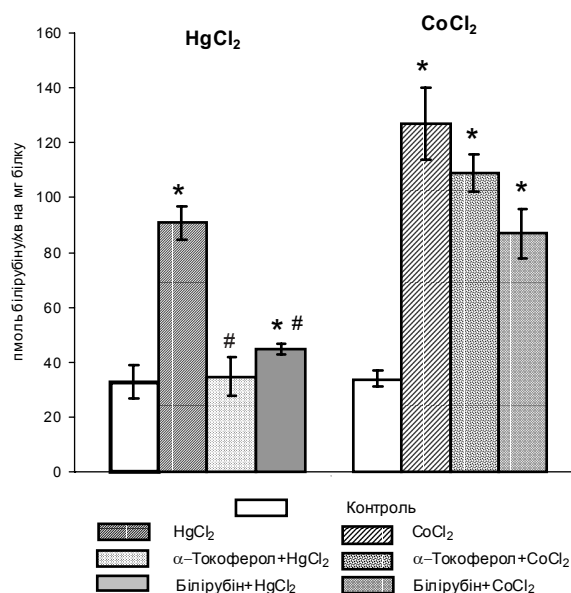


Рис. 1. Активність гемоксигенази в гомогенаті печінки щурів через 24 год після введення HgCl_2 і CoCl_2 та сумісного введення антиоксидантів і солі металу ($M \pm m$; $n=5-6$).

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю; # – $p < 0,05$ відносно HgCl_2 .

введення $HgCl_2$ збільшується в 3,5 раза, порівняно з контрольними тваринами, що свідчить про накопичення продуктів гемолізу еритроцитів (табл. 1). Через добу цей показник перевищує контрольний рівень у 2 рази (табл. 2). Вміст гемопексину в сироватці крові зменшується в перші години дії $HgCl_2$ (табл. 1), а гаптоглобіну – через день (контроль – $(4,05 \pm 0,18)$ мг/мл; $HgCl_2$ – $(2,29 \pm 0,15^*)$ мг/мл; $p < 0,05$ відносно контролю). Зниження рівня білків, що зв'язують гем та гемоглобін, свідчить про сильний гемоліз еритроцитів після введення $HgCl_2$. Одним з механізмів індукції ГО-1 є приєднання комплексу “гем-гемопексин” до відповідних рецепторів на плазматичній мембрані клітин печінки, що посилює експресію генів, які кодують ГО-1 та гемзв'язуючі білки [15]. Збільшення активності ГО, що спостерігається через добу після введення $HgCl_2$, а також індукція білка, що зв'язує гем, Тр-2,3-ДО [6], забезпечують зменшення вмісту вільного гему в умовах підвищеного рівня продуктів гемолізу в сироватці крові й вивільнення гему з цитохрому Р-450 (табл. 2).

Введення $CoCl_2$ також спричиняє збільшення вмісту продуктів гемолізу в сироватці

крові, однак їх кількість значно менша, ніж після введення $HgCl_2$ (табл. 3). Це, можливо, зумовлено різними механізмами гемолізу. Відомо, що іони ртуті можуть пошкоджувати еритроцити, безпосередньо взаємодіючи із SH-групами білків плазматичної мембрани цих клітин [30]. Гемолітична дія $CoCl_2$ в основному пов'язана з активацією вільнорадикальних процесів іонами заліза, що звільнюються при модифікації гему і гемоглобіну іонами Co^{2+} [19, 24]. Присутність продуктів гемолізу, що містять Со-протопорфірин, у сироватці крові щурів, яким було введено $CoCl_2$, показано в нашій лабораторії раніше [3]. Со-протопорфірин, як і гем, може утворювати комплекс із гемопексином, приєднання якого до відповідних рецепторів викликає індукцію ГО-1 [12]. Іони кобальту здатні також безпосередньо проникати в клітини печінки і модифікувати внутрішньоклітинний гем та гемопротеїни. Можливо, цим зумовлено зниження як активності холоферменту, так і загальної активності Тр-2,3-ДО (табл. 4).

Підвищення рівня вільного гему або його аналога – Со-протопорфірину в клітинах печінки індукує ГО-1. Певну роль у цій індукції

Таблиця 1 – Активність і насичення гемом триптофан-2,3-діоксигенази, вміст цитохрому Р-450 в печінці й оптична густина сироватки крові щурів через 2 год після введення $HgCl_2$ і після сумісного введення антиоксидантів та $HgCl_2$ ($M \pm m$; $n=5-6$)

Параметр		Вид впливу			
		Контроль	$HgCl_2$	α -Токоферол+ $HgCl_2$	Білірубін+ $HgCl_2$
Холофермент Тр-2,3-ДО ^a		$3,62 \pm 0,26$	$5,14 \pm 0,46^*$	$6,79 \pm 1,16^*$	$5,48 \pm 0,82$
Загальна Тр-2,3-ДО ^a		$9,25 \pm 0,54$	$9,71 \pm 0,88$	$11,79 \pm 2,58$	$9,38 \pm 1,29$
Насичення Тр-2,3-ДО, %		$39,44 \pm 3,49$	$53,65 \pm 4,20^*$	$60,03 \pm 5,09^*$	$58,15 \pm 4,04^*$
Цитохром Р-450 ^b		$0,320 \pm 0,004$	$0,310 \pm 0,007$	$0,320 \pm 0,020$	$0,340 \pm 0,020$
Оптична густина сироватки	В Soret-області ^c	$0,023 \pm 0,002$	$0,081 \pm 0,017^*$	$0,097 \pm 0,010^*$	$0,120 \pm 0,040^*$
	При 280 нм ^c	$0,56 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,02^*$	$0,47 \pm 0,03^*$	$0,56 \pm 0,08$

Примітка. ^a – нмоль кінуреніну/год на мг білка; ^b – нмоль/мг білка; ^c – ΔA /мг білка; * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 2 – Активність і насичення гемом триптофан-2,3-діоксигенази, вміст цитохрому Р-450 в печінці й оптична густина сироватки крові щурів через 24 год після введення $HgCl_2$ та після сумісного введення антиоксидантів і $HgCl_2$ ($M \pm m$; $n=5-6$)

Параметр		Вид впливу			
		Контроль	$HgCl_2$	α -Токоферол+ $HgCl_2$	Білірубін+ $HgCl_2$
Холофермент Тр-2,3-ДО ^a		$5,88 \pm 0,50$	$17,55 \pm 2,17^*$	$7,78 \pm 1,02$	$8,21 \pm 1,3$
Загальна Тр-2,3-ДО ^a		$17,51 \pm 1,01$	$44,23 \pm 1,76^*$	$27,44 \pm 3,84^*$	$25,65 \pm 1,99^*$
Насичення Тр-2,3-ДО, %		$33,62 \pm 1,86$	$39,57 \pm 4,12$	$28,89 \pm 2,55$	$32,29 \pm 4,67$
Цитохром Р-450 ^b		$0,380 \pm 0,020$	$0,230 \pm 0,010^*$	$0,350 \pm 0,020$	$0,290 \pm 0,001^{*#}$
Оптична густина сироватки	В Soret-області ^c	$0,033 \pm 0,006$	$0,066 \pm 0,009^*$	$0,036 \pm 0,007$	$0,027 \pm 0,004$
	При 280 нм ^c	$0,71 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,05$	$0,80 \pm 0,09$	$0,64 \pm 0,04$

Примітка. ^a – нмоль кінуреніну/год/мг білка; ^b – нмоль/мг білка; ^c – ΔA /мг білка; * – $p < 0,05$ відносно контролю; # – $p < 0,05$ відносно $HgCl_2$.

Таблиця 3 – Активність і насичення гемом триптофан-2,3-діоксигенази, вміст цитохрому P-450 в печінці й оптична густина сироватки крові щурів через 2 год після введення CoCl_2 та після сумісного введення антиоксидантів і CoCl_2 ($M \pm m$; $n=5-6$)

Параметр	Вид впливу				
	Контроль	CoCl_2	α -Токоферол+ CoCl_2	Білірубін+ CoCl_2	
Холофермент Тр-2,3-ДО ^a	5,84±0,84	5,83±0,92	6,01±0,58	8,69±2,47	
Загальна Тр-2,3-ДО ^a	12,68±0,81	14,42±2,47	11,81±0,99	27,52±7,75*	
Насичення Тр-2,3-ДО, %	45,66±4,81	41,31±2,06	50,99±2,45	31,40±3,62*	
Цитохром P-450 ^b	0,30±0,02	0,31±0,03	0,26±0,02	0,29±0,02	
Оптична густина сироватки	В Soret-області ^c	0,025±0,004	0,044±0,004*	0,038±0,009	0,038±0,01
	При 280 нм ^c	0,55±0,05	0,48±0,03	0,57±0,04	0,63±0,09

Примітка. ^a – нмоль кінуреніну/год на мг білка; ^b – нмоль/мг білка; ^c – ΔA /мг білка; * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 4 – Активність і насичення гемом триптофан-2,3-діоксигенази, вміст цитохрому P-450 в печінці й оптична густина сироватки крові щурів через 24 год після введення CoCl_2 та після сумісного введення антиоксидантів і CoCl_2 , ($M \pm m$; $n=5-6$)

Параметр	Вид впливу				
	Контроль	CoCl_2	α -Токоферол+ CoCl_2	Білірубін+ CoCl_2	
Холофермент Тр-2,3-ДО ^a	5,84±0,84	1,93±0,26*	6,08±1,13	3,01±0,20*	
Загальна Тр-2,3-ДО ^a	12,68±0,81	9,05±1,09*	24,01±2,34*	14,46±1,52	
Насичення Тр-2,3-ДО, %	45,66±4,81	22,17±3,28*	25,34±3,86*	21,39±2,41*	
Цитохром P-450 ^b	0,30±0,02	0,14±0,01*	0,24±0,02	0,22±0,03**	
Оптична густина сироватки	В Soret-області ^c	0,025±0,004	0,032±0,016	0,026±0,009	0,035±0,009
	При 280 нм ^c	0,55±0,05	0,56±0,01	0,61±0,04	0,60±0,05

Примітка. ^a – нмоль кінуреніну/год на мг білка; ^b – нмоль/мг білка; ^c – ΔA /мг білка; * – $p < 0,05$ відносно контролю; ** – $p < 0,05$ відносно CoCl_2 .

може відігравати утворення активних форм кисню при взаємодії гему з ГО-2, що має, крім каталітичного, ще два регуляторних сайти зв'язування гему [21]. Со-протопорфірин, на відміну від гему, не руйнується в ГО реакції і повільно виводиться, отже, ця сполука в достатніх для індукції ГО-1 концентраціях тривалий час зберігається в клітинах печінки [19].

З метою з'ясування ролі вільнорадикального окислення в індукції ГО і зниженні рівня цитохрому P-450 при введенні солей ртуті й кобальту за 2 год до основного впливу вводили α -токоферол або білірубін. Попереднє введення α -токоферолу повністю запобігає індукції ГО хлоридом ртуті через добу, а білірубін – лише частково (рис. 1).

Спільне введення антиоксидантів і HgCl_2 не попереджує зростання кількості продуктів гемолізу в сироватці крові (табл. 1), отже, активація вільнорадикальних процесів не є основним фактором, що викликає гемоліз еритроцитів у перші години дії солі ртуті. Однак через 24 год вміст продуктів гемолізу і гаптоглобіну в сироватці крові не відрізнявся

від відповідних значень у контрольних тварин (табл. 2). Активність холоферменту Тр-2,3-ДО через добу після сумісного введення антиоксидантів і хлориду ртуті була на рівні контрольних значень (табл. 2). Попереднє введення α -токоферолу запобігало зниженню вмісту цитохрому P-450 повністю, а білірубін – лише частково (табл. 2). Ці дані свідчать про зменшення ступеня гемолізу еритроцитів і вмісту вільного гему в печінці через добу, що може бути зумовлено обмеженням прооксидного ефекту гему при спільному введенні антиоксидантів і HgCl_2 .

На індукцію ГО хлоридом кобальту ні α -токоферол, ні білірубін достовірно не впливали (рис. 1). Разом із тим, антиоксиданти повністю запобігали зростанню інтенсивності ПОЛ, що індукується аскорбатом, у гомогенаті печінки через 2 год після введення хлориду кобальту (контроль – $4,16 \pm 0,60$; CoCl_2 – $7,68 \pm 1,22^*$; α -токоферол+ CoCl_2 – $(4,94 \pm 1,04)$; білірубін+ CoCl_2 – $(4,52 \pm 0,89)$ нмоль МДА/мг білка за 10 хв; * – $p < 0,05$ відносно контролю). Вміст продуктів гемолізу в сироватці крові при сумісному введенні антиоксидантів і CoCl_2 не

відрізнявся від контрольних значень у перші години дії солі металу (табл. 3). Через добу після спільного введення α -токоферолу і CoCl_2 активність холоферменту Тр-2,3-ДО не зменшується, а загальна активність збільшується (табл. 4). Таким чином, зниження насичення ферменту гемом при сумісному введенні α -токоферолу і CoCl_2 зумовлене підвищенням вмісту апобілка Тр-2,3-ДО. Ефект спільного введення α -токоферолу і CoCl_2 на активність Тр-2,3-ДО може бути пов'язаний, з одного боку, зі зменшенням вмісту Со-протопорфірину в печінці, а з іншого – з посиленням секреції глюкокортикоїдів [8], що, як відомо, є індукторами Тр-2,3-ДО [16]. Попереднє введення білірубину викликає підвищення загальної активності Тр-2,3-ДО за 2 год і частково запобігає зниженню активності холоферменту за добу після введення хлориду кобальту (табл. 3, 4). Ці зміни активності Тр-2,3-ДО, напевно, пов'язані з гемолітичним

ефектом білірубину у вибраній дозі та подальшою індукцією ГО (табл. 5). Попереднє введення білірубину частково, а α -токоферолу повністю, запобігало зменшенню вмісту цитохрому Р-450 (табл. 4). Останнє свідчить про те, що причиною зниження рівня цитохрому Р-450 при введенні солей металів є не підвищення активності ГО, а пошкодження цього гемопротейну вільними радикалами.

Введення α -токоферолу контрольним тваринам не впливало ні на один із показників, що досліджувались, за винятком насичення гемом Тр-2,3-ДО (табл. 5). Введення білірубину спричиняло підвищення загальної активності Тр-2,3-ДО за 2 год, зростання активності ГО, зниження активності холоферменту та насичення гемом Тр-2,3-ДО через добу. Ефект білірубину на показники, що вивчались, можливо, зумовлений гемолізом еритроцитів, що спостерігався в першу годину після його введення.

Таблиця 5 – Активність і насичення гемом триптофан-2,3-діоксигенази, вміст цитохрому Р-450 в печінці й оптична густина сироватки крові щурів через 4 та 26 год після введення α -токоферолу або білірубину ($M \pm m$, $n=5-6$)

Параметри	Вид впливу					
	Контроль	α -Токоферол		Білірубін		
		4 год	26 год	4 год	26 год	
Гемоксигеназа ^a	37,0 \pm 0,4	40,0 \pm 0,9	40,0 \pm 0,9	46,0 \pm 0,7	50,0 \pm 0,5*	
Холофермент Тр-2,3-ДО ^b	5,84 \pm 0,84	4,29 \pm 0,54	3,84 \pm 1,29	7,8 \pm 1,15	2,99 \pm 0,43*	
Загальна Тр-2,3-ДО ^b	12,68 \pm 0,81	12,43 \pm 1,04	10,87 \pm 1,98	22,60 \pm 3,00*	13,02 \pm 1,86	
Насичення Тр-2,3-ДО, %	45,66 \pm 4,81	34,42 \pm 2,84	33,03 \pm 4,88*	34,89 \pm 4,61	23,53 \pm 2,65*	
Цитохром Р-450 ^c	0,30 \pm 0,02	0,31 \pm 0,02	0,28 \pm 0,02	0,32 \pm 0,20	0,27 \pm 0,02	
Оптична густина сироватки	В Soret-області ^d	0,025 \pm 0,004	0,026 \pm 0,006	0,029 \pm 0,006	0,034 \pm 0,01	0,021 \pm 0,005
	При 280 нм ^d	0,55 \pm 0,05	0,72 \pm 0,10	0,50 \pm 0,10	0,63 \pm 0,06	0,59 \pm 0,05

Примітка. ^a – пмоль білірубину/хв на мг білка; ^b – нмоль кінуреніну/год на мг білка; ^c – нмоль/мг білка; ^d – ΔA /мг білка; * – $p < 0,05$ відносно контролю.

ВИСНОВКИ. 1. Таким чином, індукція ГО після введення HgCl_2 зумовлена підвищенням рівня вільного гему в сироватці крові й печінці, що підтверджується збільшенням вмісту продуктів гемолізу, активності холоферменту і насичення гемом Тр-2,3-ДО, тоді як індукція ГО після введення CoCl_2 , ймовірно, викликана утворенням аналога гему – Со-протопорфірину.

2. Попереднє введення антиоксидантів запобігає підвищенню як активності ГО, так і вмісту вільного гему в крові й печінці після введення HgCl_2 . При сумісному введенні α -токоферолу і CoCl_2 знижується кількість вільного гему (нормалізуються вміст продуктів

гемолізу в сироватці крові та активність холоферменту Тр-2,3-ДО, зберігається рівень цитохрому Р-450), тоді як попереднє введення білірубину не попереджає зниження вмісту вільного гему в клітинах печінки та недостатньо захищає цитохром Р-450 від руйнування. Антиоксидний ефект білірубину, ймовірно, зумовлений індукцією ГО та білків, що зв'язують гем, у тому числі Тр-2,3-ДО.

3. Ступінь і тривалість індукції ГО іонами металів визначаються як кількістю субстрату й активацією вільнорадикальних процесів, так і швидкістю деградації і виведення металопорфіринового комплексу, що утворюється.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
2. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973. – 144 с.
3. Калиман П.А., Баранник Т.В. Регуляция активности δ-аминолевулинатсинтазы при окислительном стрессе // Биохимия. – 1999. – **64**, № 3. – С. 116-122.
4. Калиман П.А., Беловецкая И.В. Влияние хлорида кобальта на активность ключевых ферментов метаболизма гема в печени крысы // Биохимия. – 1986. – **51**, № 8. – С. 1302-1308.
5. 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. – С. 138-148.
6. Калиман П.А., Никитченко И.В., Баранник Т.В., Сокол О.А. Метаболизм гема и гемопротеинов в печени крыс при введении хлорида ртути // Укр. биохим. журн. – 1999. – **6**, № 6. – С. 53-57.
7. Калиман П.А., Никитченко И.В., Манандхар С.П. Роль гема в регуляции триптофан-2,3-диоксигеназной активности и содержания цитохрома P-450 в печени крыс // Биохимия. – 1989. – **54**, № 10. – С. 1719-1723.
8. Спиричев В.Б., Конь И.Я. Биологическая роль жирорастворимых витаминов // Итоги науки и техники. Серия: Физиология человека и животных. – Москва: ВИНТИ, 1989. – С. 160-194.
9. Строев Е.А., Макарова В.Г. Практикум по биологической химии. – М.: Высшая школа, 1986. – 270 с.
10. Alam J., Camhi S., Choi A.M.K. Identification of a second region upstream of the mouse heme oxygenase-1 gene that functions as a basal level and inducer-dependent transcription enhancer // J. Biol. Chem. – 1995. – **270**, № 20. – P. 11977-11984.
11. Badawy A. A.-B., Evans M. The effects of chemical porphyrins and drugs on the activity of rat liver tryptophan pyrrolase // Biochem. J. – 1973. – **136**, № 4. – P. 885-892.
12. Eskew J.D., Vanacore R.M., Sung L. et al. Cellular protection mechanism against extracellular heme // J. Biol. Chem. – 1999. – **274**. – P. 638-648.
13. Gutteridge J.M.S., Smith A. Antioxidant protection by haemopexin of haem-stimulated lipid peroxidation // Biochem. J. – 1988. – **256**, № 4. – P. 861-865.
14. Gwordzinski K. A spun label study of the action of copric and mercuric ions on human red blood cells // Toxicology. – 1991. – **65**. – P.315-323.
15. Immenschuh S., Iwahara S., Satoh et al. Expression of mRNA of heme-binding protein 23 is coordinated with that of heme oxygenase –1 by heme and heavy metals in primary rat hepatocytes and hepatoma cells // Biochemistry. – 1995. – **34**. – P. 13407-13411.
16. Killewich L.A., Feigelson P. Developmental control of messenger RNA for hepatic tryptophan-2,3-dioxygenase // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1977. – **74**, № 12. – P. 5392-5396.
17. Lavrovsky Y., Schwartzman M.L., Levere et al. Identification of binding sites for transcription factors NF-κB and AP-2 in the promoter region of human heme oxygenase 1 gene // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – **91**. – P. 5987-5991.
18. Maines M.D., Kappas, A. Regulation of heme pathway enzymes and cellular glutathione content by metals that do not chelate with tetrapyrroles: Blockade of metal effects by thiol // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1977. – **74**. – P. 1875-1878.
19. Maines M.D. New developments in the regulation of heme metabolism and their implication // CRC Crit. Rev. Toxicol. – 1984. – **12**, № 5. – P. 241-314.
20. Maines M.D. Heme Oxygenase: Clinical Applications and Functions. – Inc. Boca Ration, Press CRC, FL, 1992. – 266 p.
21. Maines M.D. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1997. – **37**. – P. 517-554.
22. Matsubara T., Koike M., Touchi A et al. Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate // Anal. Biochem. – 1976. – **75**. – P. 596-603.
23. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem. – 1959. – **31**, № 5. – P. 964-966.
24. Ribarov S.R., Benov L.C. Relationship between the gemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation // Biochem. Biophys. Acta. – 1981. – **640**. – P. 721-726.
25. Sardana M.K., Sassa S., Kappas A. Hormonal regulation of heme oxygenase induction in avian hepatocyte culture // Biochem. Pharmacol. – 1985. – **34**, № 16. – 2937-2944.
26. Stocker R., Glaser A.N., Ames B.N. Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1987. – **84**, № 16. – P. 5918-5922.
27. Sunderman F.W., Metals and lipid peroxidation // Acta Pharmacol. Toxicol. – 1986. – **59**. – P. 248-255.
28. Takahashi N., Takahashi Y., Putnam F.W. Complete amino acid sequence of human hemopexin, the heme-binding protein of serum // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1985. – **82**. – P. 73-77.
29. Welch A.N., Badawy A. A.-B. Tryptophan pyrrolase in haem regulation. Experiments with administered haemin and relationship between the haem saturation of tryptophan pyrrolase and activity of 5-aminolevulinatase in rat liver // Biochem. J. – 1980. – **192**, № 2. – P. 403-410.
30. Yang, M. Effect of sulfhydryl reagents on spectrin states on the erythrocyte membrane // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1993. – **192**. – P. 918-925.

ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ НА ГЕМОКСИГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕСЕ, ВЫЗВАННОМ ВВЕДЕНИЕМ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА И ХЛОРИДА РТУТИ

П.А. Калиман, И.В. Никитенко, О.А. Сокол, К.В. Стрельченко
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА

Резюме

Изучено активность гемоксигеназы, триптофан-2,3-диоксигеназы, содержание цитохрома P-450 в печени крыс и спектр поглощения сыворотки крови в Soret-области и при 280 нм через 2 и 24 часа после введения $HgCl_2$ и $CoCl_2$, а также совместного введения α -токоферола или билирубина и соли металла. После введения $HgCl_2$ и $CoCl_2$ наблюдаются повышение содержания продуктов гемолиза в сыворотке крови, индукция гемоксигеназы и снижение содержания цитохрома P-450 в печени. Активность холофермента и насыщение триптофан-2,3-диоксигеназы гемом после введения $HgCl_2$ повышаются, а после введения $CoCl_2$ – снижаются. Предварительное введение α -токоферола полностью, а билирубина частично, предотвращает изменения, которые наблюдаются через сутки после введения ртути. Антиоксиданты не блокируют индукцию гемоксигеназы $CoCl_2$, хотя частично нормализуют уровень продуктов гемолиза в сыворотке крови, активность холофермента триптофан-2,3-диоксигеназы и содержание цитохрома P-450. Обсуждено механизмы регуляции гемоксигеназы ионами ртути и кобальта и антиоксидное действие α -токоферола и билирубина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемоксигеназа, триптофан-2,3-диоксигеназа, хлорид ртути, хлорид кобальта, α -токоферол, билирубин, оксидативный стресс.

EFFECT OF ANTIOXIDANTS ON HEME OXYGENASE ACTIVITY IN THE RAT LIVER DURING THE OXIDATIVE STRESS CAUSED BY MERCURY CHLORIDE AND COBALT CHLORIDE

P.A. Kaliman, I.V. Nikitchenko, O.A. Sokol, E.V. Strelchenko
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN

Summary

The heme oxygenase, tryptophan-2,3-dioxygenase activities, cytochrome P-450 content in rat liver and absorption spectrum of blood serum in Soret region and in 280 nm 2 and 24 hours after $HgCl_2$ and $CoCl_2$ administration, co-administration of antioxidants and metal salt was studied. Administration of $HgCl_2$ and $CoCl_2$ leads to the increasing of hemolysis products' content in blood serum, the induction of heme oxygenase and the decreasing of cytochrome P-450 level in liver. The holoenzyme activity and heme saturation of tryptophan-2,3-dioxygenase are increased after $HgCl_2$ administration, but decreased after $CoCl_2$ administration. Preliminary administration of α -tocopherol fully and bilirubin in part prevent the changes of studied parameters after administration of $HgCl_2$. Antioxidants do not block the induction of heme oxygenase activity by $CoCl_2$, although in part prevent the increasing of hemolysis products' content in blood serum, the decreasing of the holoenzyme activity of tryptophan-2,3-dioxygenase and cytochrome P-450 content. The mechanisms of regulation of heme oxygenase by mercury and cobalt ions and the antioxidant effect of α -tocopherol and bilirubin are discussed.

KEY WORDS: heme oxygenase, tryptophan-2,3-dioxygenase, cobalt chloride, mercury chloride, α -tocopherol, bilirubin, oxidative stress.

Отримано 17.01.2001 р.

Адреса для листування: П.А. Каліман, кафедра біохімії, Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, 61077, Харків, Україна; e-mail: Pavel.A.Kaliman@univer.kharkov.ua.

СТАН ТІОЛОВОЇ СИСТЕМИ ТА ГЛУТАТІОНЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ІЗ ПЕРЕВИВНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

Л.В. Бойцова, І.В. Данова, Г.І. Кулик*, В.Ф. Чехун*
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ
ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ, КИЇВ*

Досліджено вплив перевивної карциноми Герена на стан тіолової системи та активність глутатіонзалежних ферментів у різних органах щурів. Показано, що пухлинний ріст супроводжується збільшенням у печінці рівня дисульфиду глутатіону і зменшенням у нирках та селезінці вмісту вільних сульфгідрильних груп, підвищенням активності ферментів детоксикації (глутатіонтрансферази, глутатіонпероксидази). У мітотично активній тканині селезінки розвиток пухлинного процесу викликає збільшення рівня загальних і білкових сульфгідрильних груп, а також підвищення активності глутатіонредуктази та тіолтрансферази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тіолова система, глутатіонзалежні ферменти, карцинома Герена.

ВСТУП. Різноманітні біологічні функції глутатіону і глутатіонзалежних ферментів знаходяться на сьогодні в центрі уваги дослідників різних галузей біології та медицини [2]. Стан тіолової системи й активність глутатіонзалежних ферментів у тканинах пухлин, а також дія на пухлину різних антибластомних препаратів, досить добре вивчено [4]. Менше уваги приділяється проблемі впливу пухлинного росту на стан тіолової системи в організмі тварин-пухлиноносіїв і пов'язаною з останньою низкою життєво важливих процесів. Перш за все це стосується процесів детоксикації екзо- й ендогенних сполук, які реалізуються через глутатіонову систему та захист організму від активованих метаболітів кисню. Відомо, що тіол-дисульфідний обмін клітини суттєво впливає на активність ряду ферментів [3]. З ним пов'язані обмін фізіологічно активних речовин, біосинтез білків та нуклеїнових кислот, процеси проліферації та багато інших функцій. Але всі ці процеси на тлі пухлинного росту вивчено недостатньо.

Метою наших досліджень було вивчення стану тіолової системи й активності глутатіонзалежних ферментів у незмінених тканинах щурів із перевивною карциномою Герена.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 50 білих щурах-самцях лінії Вістар

© Л.В. Бойцова – к.б.н., І.В. Данова – к.б.н., Г.І. Кулик – д.м.н., проф., В.Ф. Чехун – чл.-кор. НАН України, д.м.н., проф., 2001.

масою тіла 180-200 г. Їм перевивали під шкіру тулуба клітини карциноми Герена у вигляді 20 % суспензії подрібненої тканини пухлини. Інтактних тварин і цих щурів на 10-12 добу після перевивки штаму забивали шляхом декапітації. Видалення печінки, нирок і селезінки проводили на холоді. Печінку ретельно відмивали від еритроцитів холодним фізіологічним розчином. Вміст загальних (T-SH), білкових (P-SH) та вільних (N-SH) сульфгідрильних груп визначали за реакцією з дитіо/біс/нітробензойною кислотою ("Serva", Німеччина) згідно з методом [10]. Визначення концентрації відновленого та окисленого глутатіону проводили в супернатанті флуориметричним методом [7] з реєстрацією показників на флуориметрі "Hittachi MPF-4" (Японія). Як флуорисцентний реагент використовували 0-фталевий альдегід ("Sigma", США). Супернатант і цитозоль виділяли за допомогою диференційного центрифугування на центрифугі MSE-65 (Англія) з кутовим ротором. Активність глутатіонтрансферази (ГТ) оцінювали за зв'язуванням із хлординітробензолом ("Serva") [6], глутатіонредуктази (ГР) – за споживанням NADPH ("Sigma") [5], глутатіонпероксидази (ГПО) [11] і тіолтрансферази (ТТ) [8] – за швидкістю окислення NADPH у з'єднаній глутатіонредуктазній системі. Вміст білка в гомогенаті та цитозолі визначали за методом Лоурі [9]. Спектри поглинання реєстрували на спектрофотометрі "Shimadzu MPS-500" (Японія). Статистичну обробку про-

водили із застосуванням t-критерію Стьюдента. Результати аналізу показників вважали достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вміст сульфгідрильних груп у тканинах інтактних щурів та в незмінених органах тварин із карциномою Герена наведено в таблиці 1. Зміни метаболізму в організмі тварин-пухлиноносіїв супроводжуються зменшенням вмісту сульфгідрильних груп низькомолекулярних тіолів у нирках та селезінці. У печінці відмічено незначну тенденцію до зниження цього показника. Кількість білкових сульфгідрильних груп залишається у фізіологічних межах у незміненій тканині печінки та нирок, тоді як у мітотично активному органі – селезінці – відмічено достовірне збільшення цього показника на 37,4 % відносно інтактних тварин. У селезінці зареєстровано підвищення кількості загальних сульфгідрильних груп, що пов'язано із зростанням концентрації білкових сульфгідрилів.

У печінці щурів визначали відновлений та окислений глутатіон. Що стосується відновленого глутатіону, то відмічено тенденцію до незначного зниження його вмісту (інтактні – $5,200 \pm 0,279$ мкмоль/г тканини; пухлиноносії – $4,800 \pm 0,484$ мкмоль/г) на тлі підвищення кількості окисненого глутатіону (інтактні – $0,310 \pm 0,013$ мкмоль/г; пухлиноносії – $0,240 \pm 0,022$ мкмоль/г) в тканині печінки щурів із перевивною карциномою Герена.

Такі зміни тіолового статусу під впливом патологічного процесу, можливо, пов'язані з інтенсифікацією в незмінених тканинах при наявності пухлини процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), які супроводжуються зменшенням вмісту вільних тіолів і відновленого глутатіону в реакціях при безпосередній взаємодії з активними формами кисню. Крім того, зменшення концентрації вільних SH-груп низькомолекулярних тіолів може відбуватись за рахунок ферментативного окислення глутатіону з утворенням його дисульфідної

форми. Накопичення окисненого глутатіону в печінці розцінюють як індикатор посилення процесів переокислення [1].

Найбільш виражені зміни тіолового статусу при пухлинному рості відмічено в тканині селезінки, особливістю якої, як і інших кровотворних тканин, окрім високої мітотичної активності, є інтенсивний перебіг катаболічних процесів при нормальному гемопоезі. Підвищення рівня T-SH і P-SH у тканині селезінки при пухлинному рості, можливо, відбувається в результаті загибелі гемопоетичних клітин і накопичення продуктів білкового та нуклеїнового розпаду при дії токсичних ендосполук, що утворюються в процесі життєдіяльності пухлини.

Активність глутатіонзалежних ферментів (ГТ, ГР, ГПО, ТТ) досліджували в органах із різною мітотичною активністю: печінці та селезінці. У печінці зареєстровано високий рівень активності цих ферментів [2]. Найбільш виражені зміни тіолового статусу відмічено в незміненій тканині селезінки при пухлинній патології, порівняно з іншими досліджуваними органами. Окрім того, в тканині селезінки інтактних тварин виявлено менший вміст вільних тіолів, ніж в інших органах, і низьку, порівняно з печінкою, активність ферментів глутатіонового циклу (ГТ, ГР, ТТ).

Результати визначення активності глутатіонзалежних ферментів представлено на рисунку 1. Патологічний процес супроводжується підвищенням активності ГТ у печінці та селезінці щурів-пухлиноносіїв, що, можливо, пов'язано з появою в організмі продуктів життєдіяльності клітин пухлини чи (або) реакційноздатних сполук, які утворюються в організмі в результаті порушень нормального метаболізму, викликаного перебігом онкопатології.

При пухлинному рості відмічено значне підвищення як у печінці, так і в селезінці активності ГПО – одного із найважливіших компонентів антипероксидної ферментної системи клітини. Це свідчить про те, що в організмі тварин-пухлиноносіїв посилюються

Таблиця 1 – Вміст сульфгідрильних груп у незмінених тканинах щурів із перевивною карциномою Герена ($M \pm m$; $n=6$)

Досліджуваний орган	Група тварин	Показники, мкмоль/г тканини		
		T-SH	P-SH	N-SH
Печінка	Інтактні	$27,630 \pm 1,633$	$22,320 \pm 1,403$	$5,310 \pm 0,279$
	Пухлиноносії	$26,040 \pm 1,148$	$21,240 \pm 1,156$	$4,800 \pm 0,484$
Нирки	Інтактні	$19,880 \pm 0,506$	$15,550 \pm 0,352$	$4,330 \pm 0,232$
	Пухлиноносії	$19,680 \pm 0,344$	$16,260 \pm 0,356$	$3,420 \pm 0,198^*$
Селезінка	Інтактні	$22,300 \pm 0,929$	$18,900 \pm 0,861$	$3,400 \pm 0,071$
	Пухлиноносії	$28,240 \pm 1,904^*$	$25,960 \pm 2,072^*$	$2,280 \pm 0,273^*$

Примітка. * – $p < 0,05$, порівняно з інтактними тваринами.

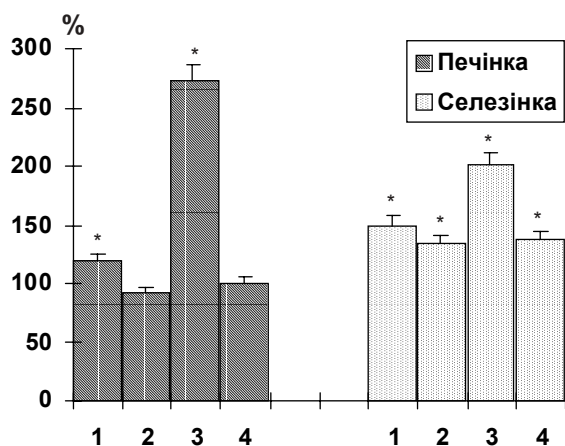


Рис. 1. Активність глутатіонзалежних ферментів у незмінених тканинах щурів із перевивною карциномою Герена.

Примітка. 1 – глутатіонтрансфераза; 2 – глутатіонредуктаза; 3 – глутатіонпероксидаза; 4 – тіолтрансфераза.

* – статистично достовірні зміни, порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,05$).

процеси утворення гідропероксидів та органічних пероксидів. ГПО, метаболізуючи останні, може запобігати накопиченню вторинних продуктів ПОЛ. У цих процесах бере участь відновлений глутатіон, який окислюється до дисульфідів.

Функціонування ГПО в клітині тісно пов'язане з ГР, що регенерує відновлений глутатіон із його дисульфідів. Активність ГР у печінці щурів-пухлиноносіїв не змінювалась, порівняно з інтактними тваринами, а в селезінці вона збільшилась на 33,7 %, що можна вважати проявом захисно-адаптивної реакції,

спрямованої на запобігання розвитку в мітотично активних органах процесів перекислення.

У селезінці щурів із карциномою Герена виявлено підвищення активності ТТ на 36,3 %, порівняно з інтактними тваринами (рис. 1), що, можливо, відбувається при посиленні відновлення низькомолекулярних та білкових дисульфідів і може призвести до відновлювальної деградації деяких білків і пептидів. У печінці щурів-пухлиноносіїв активність ТТ залишалась у межах нормальних значень.

ВИСНОВКИ. На тлі процесів пухлиноутворення спостерігаються зміни тіолового статусу та активності глутатіонзалежних ферментів в організмі щурів. Пухлинний ріст супроводжується збільшенням вмісту в незмінених органах дисульфідів глутатіону і підвищенням активності ферментів детоксикації (ГТ, ГПО), а також порушенням тіолдисульфідного статусу мітотичноактивних тканин, що проявляється збільшенням активності ГР і ТТ. Активація ключових ферментів обміну глутатіону призводить до посиленої утилізації вільних тіолів та зменшення їх концентрації в нирках і селезінці щурів-пухлиноносіїв. Такі зміни тіолового статусу та активності глутатіонзалежних ферментів, як відповідь на патологічні зміни клітинного метаболізму під впливом пухлиноутворення, спрямовані на подолання токсичних ефектів, пов'язаних із розвитком в організмі злоякісних пухлин.

ЛІТЕРАТУРА

- Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Усп. совр. биол. – 1993. – **113**, № 4. – С. 456-470.
- Кулинский В.И. Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Усп. совр. биол. – 1990. – **110**, № 1 (4). – С. 20-33.
- Кулис Ю.Ю., Куртинайтине Б.С., Карпавичене Д.П., Кулене В.В. Влияние окислительно-восстановительного состояния глутатиона на активность ацетаткиназы E. Coli // Биохимия. – 1985. – **5**, № 2. – С. 307-311.
- Bellamy W.T., Dalton W.S., Metzger P., Dorr R.T. Role of glutathione and its associated enzymes in multidrug-resistant human myeloma cells // Biochem. Pharmacol. – 1989. – **38**, № 5. – P. 787-793.
- Beutler E. Glutathione reductase: stimulation in normal subjects by riboflavin supplementation // Science. – 1969. – **3893**. – P. 613-615.

- Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. The first enzymatic step in mercaptopuric acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – **249**. – P. 7130-7139.
- Hissin P.J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // Anal. Biochem. – 1976. – **74**. – P. 214-226.
- Larson K., Eriksson V., Mannervik B. Thioltransferase from Human placenta // Meth. Enzymol. – 1985. – **113**. – P. 520-524.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**. – P. 265-369.
- Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulphhydryl groups in tissue with Ellman's reagent // Anal. Biochem. – 1968. – **25**, № 1-3. – P. 192-205.
- Wendel A. Method of determination of the glutathione peroxidase in tissues // Meth. Enzymol. – 1985. – **113**. – P. 520-524.

СОСТОЯНИЕ ТИОЛОВОЙ СИСТЕМЫ И ГЛУТАТИОНЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ КРЫС С ПЕРЕВИВНОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА

Л.В. Бойцова, И.В. Данова, Г.И. Кулик*, В.Ф. Чехун*
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ И РАДИОБИОЛОГИИ
ИМ. Р.Е. КАВЕЦКОГО НАН УКРАИНЫ, КИЕВ*

Резюме

Исследовано влияние перевивной карциномы Герена на состояние тиоловой системы и активность глутатионзависимых ферментов в различных органах крыс. Показано, что опухолевый рост сопровождается увеличением в печени уровня дисульфида глутатиона и уменьшением в почках и селезенке содержания свободных сульфгидрильных групп, повышением активности ферментов детоксикации (глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы). В митотически активной ткани селезенки развитие опухолевого процесса вызывает увеличение уровня общих и белковых сульфгидрильных групп, а также повышение активности глутатионредуктазы и тиолтрансферазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тиоловая система, глутатионзависимые ферменты, карцинома Герена.

STATE OF THIOL SYSTEM AND GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES IN RAT TISSUES WITH INOCULATED GUERIN CARCINOMA

L.V. Boitsova, I.V. Danova, G.I. Kulik*, V.F. Chekhun*
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF MEDICAL SCIENCES ACADEMY OF UKRAINE, KYIV
INSTITUTE OF EXPERIMENTAL PATHOLOGY, ONCOLOGY AND RADIOBIOLOGY BY R.E. KAVETSKY
OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV*

Summary

Influence of inoculated Guerin carcinoma on the state of thiol system and the activity of glutathione-dependent enzymes in different rat tissues was studied. Tumor growth was shown to be accompanied by the increase of disulphide glutathione in the liver and to cause the decrease of the reduced glutathione contents and the increase of the activity of detoxication enzymes (glutathione transferase, glutathione reductase). In mitotically active tissues of the spleen the development of the tumour process caused the increase of common and enzymatic sulfhydryl groups level and the disturbance of the thiol-disulfide status, which was manifested by the increase of glutathione reductase and thioltransferase activity.

KEY WORDS: thiol system, glutathione-dependent enzymes, Guerin's carcinoma.

Отримано 9.01.2001 р.

Адреса для листування: Л.В. Бойцова, бульв. Шевченко, 38/135, 01032, Київ, Україна.

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ПОРУШЕННЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНОСТІ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧУВАЛЬНИХ ФЕРМЕНТІВ ПРИ КАДМІЄВІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ

Я.І. Гонський, С.О. Ястремська

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Під впливом хлориду кадмію суттєво активуються процеси ліпопероксидації в плазмі крові й печінці експериментальних тварин. Найбільш виражені зміни спостерігаються в молодому віці. Активація реакцій перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) при кадмієвій інтоксикації зумовлює зміни активності енергозабезпечувальних ферментів: сукцинатдегідрогенази і протонної АТФ-ази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вік, кадмієва інтоксикація, процеси ліпопероксидації, енергозабезпечувальні ферменти.

ВСТУП. У зв'язку з бурхливим розвитком хімічної промисловості, протягом останніх років значно збільшилася кількість хімічних сполук, з якими контактує людина. Особливо небезпечним є техногенне забруднення довкілля важкими металами, яким притаманні висока біологічна активність і здатність до кумуляції в організмі. Серед таких металів велику стурбованість викликає кадмій, який зумовлює порушення в організмі обміну інших біоелементів (міді, заліза, кальцію) [6, 8], а також має тривалий період напіввиведення з організму [1]. Доведено, що кадмій є тіоловою отрутою, тобто здатний інгібувати сульфгідрильні групи білків в організмі, а отже, пригнічувати антиоксидну систему й активувати процеси ліпопероксидації [9]. З іншого боку, інтенсивність вільнорадикальних реакцій в організмі має чітко виражену вікову залежність. Останній момент, а також той факт, що кадмію притаманна здатність кумулюватися в організмі, передбачають доцільність вікового аспекту дослідження патогенної дії цього металу.

Метою даної роботи було дослідити вплив хлориду кадмію на динаміку процесів вільнорадикального окислення в плазмі крові й печінці щурів різного віку, а також на показники активності деяких енергозабезпечувальних ферментів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на лабораторних щурах-самцях масою тіла 150-200 г, яких утримували на © Я.І. Гонський – д.м.н., проф., С.О. Ястремська, 2001.

стандартному раціоні віварію. Усіх тварин розділили на 3 групи: I – молоді (3 міс.), II – дорослі (6 міс.) і III – старі (18 міс.). Кадмієвий токсикоз викликали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення водного розчину хлориду кадмію в дозі 7 мг/кг. Щурів декапітували під ефірним наркозом на 1-у, 4-у, 7-у і 14-у доби після введення токсину. Як контроль використовували інтактних тварин відповідного віку. Досліджували плазму крові й гомогенат печінки. Про активність вільнорадикальних процесів судили за вмістом у тканинах гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) [3], малонового діальдегіду (МДА) [2] та шифових основ [10]. Мітохондріальну фракцію гепатоцитів виділяли методом диференційного центрифугування [7]. Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) у мітохондріях визначали за методом [5], а протонної АТФ-ази – за методом [4].

Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані, наведені в таблиці 1, процеси ліпопероксидації в плазмі крові молодих інтактних тварин перебігають інтенсивніше, ніж в дорослих, а тим більше у старих. Так, вміст ГПЛ у плазмі здорових молодих тварин був на 11 %, а в печінці – на 9 %, вищим, ніж такий у старих щурів. Ще більшою в цих вікових групах була різниця концентрації МДА (16 % – в плазмі й 23 % – в печінці). Оскільки швидкість

ліпопероксидних процесів в організмі детермінується трьома основними факторами (інтенсивністю генерації вільних радикалів, наявністю субстратів для окислення і станом антиоксидної системи), то можна припустити, що вища інтенсивність процесів ПОЛ у тканинах молодих тварин, очевидно, зумовлена або функціональною недосконалістю в них системи антиоксидного захисту, або, що більш імовірно, більшим вмістом у крові й гепатоцитах ненасичених жирних кислот.

Введення хлориду кадмію щурам усіх вікових груп зумовило активацію процесів ліпопероксидації як у плазмі крові, так і в печінці. При цьому максимальну інтенсивність вільнорадикальних реакцій зареєстровано на 4-у і 7-му доби після введення токсину. В ці періоди дослідження спостерігався найвищий рівень ГПЛ і МДА в плазмі крові й печінці уражених тварин.

Якщо брати до уваги віковий аспект, то слід зазначити, що під впливом токсину процеси ПОЛ найбільшою мірою інтенсифікуються в молодих тварин. Так, у період максимальних змін (4-7-а доби) вміст ГПЛ у плазмі крові

3-місячних щурів був майже у 2 рази вищим, ніж в інтактних тварин, і на 40 % вищим, порівняно з аналогічним показником у 18-місячних щурів. У печінці ця різниця становила, відповідно, 90 і 46 %. Такі зміни зафіксовано і з боку малонового діальдегіду.

Отже, отруєння хлоридом кадмію призводить до активації процесів ліпопероксидації в печінці й крові експериментальних тварин. Прояви токсичності кадмію більш виражені в молодому організмі й максимальні на 4-у добу з моменту інтоксикації. Очевидно, прооксидний ефект цього важкого металу зумовлений його здатністю блокувати SH-групи білків, у тому числі й ферментів-антиоксидантів, а також відновленого глутатіону та інших антиоксидних сполук, що призводить до функціональної недостатності системи антиоксидного захисту організму [12]. При зіставленні змін концентрації ГПЛ і МДА можна побачити, що більшою мірою підвищувався рівень ГПЛ. Можливо, це пов'язано з тим, що МДА здатний швидко метаболізуватися, перетворюючись, з одного боку, в малонову кислоту, далі – до кінцевих продуктів окислення (CO_2 і H_2O), а з

Таблиця 1 – Динаміка вмісту ГПЛ, МДА і шифових основ у плазмі крові й печінці щурів різного віку, отруєних хлоридом кадмію ($M \pm m$; $n=6$)

Групи тварин	Інтактні тварини	Час після введення CdCl_2 (доба)			
		1-а	4-а	7-а	14-а
Гідроперекиси ліпідів					
<i>Плазма крові, ммоль/мл</i>					
I	1,61±0,02	2,39±0,03*	3,06±0,03*	2,83±0,09*	2,04±0,08*
II	1,58±0,02	2,23±0,10*	3,21±0,07*	2,87±0,09*	1,84±0,05*
III	1,45±0,03	1,57±0,07	2,19±0,10*	2,01±0,06*	1,53±0,09
<i>Гомогенат печінки, ммоль/г</i>					
I	1,73±0,02	2,66±0,09*	3,28±0,04*	3,20±0,04*	2,52±0,05*
II	1,67±0,01	2,42±0,07*	2,80±0,04*	2,68±0,04*	2,14±0,04*
III	1,58±0,02	1,76±0,09	2,24±0,05*	2,08±0,04*	1,72±0,06
Малоновий діальдегід					
<i>Плазма крові, ммоль/мл</i>					
I	1,20±0,06	1,36±0,08	1,60±0,10*	1,34±0,03	1,37±0,04*
II	1,09±0,12	1,49±0,04	1,76±0,01*	1,39±0,03*	1,15±0,11
III	1,03±0,04	1,35±0,07*	1,55±0,03*	1,42±0,05*	1,32±0,02*
<i>Гомогенат печінки, ммоль/г</i>					
I	3,69±0,03	5,53±0,07*	6,64±0,09*	4,98±0,05*	4,61±0,05*
II	3,41±0,08	4,61±0,14*	5,63±0,21*	4,78±0,16*	4,09±0,12*
III	2,99±0,04	3,59±0,05*	5,38±0,12*	4,18±0,09*	3,44±0,05*
Шифові основи					
<i>Плазма крові, ум.од./мл</i>					
I	1,52±0,09	2,05±0,08*	2,88±0,16*	2,58±0,05*	1,75±0,06*
II	1,36±0,02	1,60±0,10*	2,45±0,12*	2,07±0,03*	1,47±0,08
III	1,27±0,06	1,39±0,12	1,55±0,08*	1,61±0,14*	1,37±0,10
<i>Гомогенат печінки, ум.од./г тканини</i>					
I	2,61±0,18	3,99±0,24*	4,83±0,25*	3,86±0,21*	3,45±0,18*
II	2,55±0,21	3,21±0,21*	3,52±0,20*	3,11±0,30	3,01±0,26
III	2,46±0,22	3,25±0,18*	3,00±0,12	2,76±0,12	2,66±0,11

Примітка. * – зміни достовірні, порівняно з показниками інтактних тварин.

іншого, взаємодіючи з ϵ -аміногрупами лізину білків, утворювати шифові основи. Як видно з таблиці 1, вміст шифових основ у плазмі крові й печінці отруєних тварин різко зростає. Як і у випадку з ГПЛ і МДА, максимальні показники зареєстровано в молодих щурів на 4-7-у доби експерименту.

Відомо, що активація процесів ліпопероксидації призводить до порушення структури і функцій біомембран і зв'язаних із ними ферментів. Тому цікаво було дослідити вплив хлориду кадмію на активність енергозабезпечувальних ферментів, функціонування яких тісно пов'язане із структурною цілісністю мітохондріальних мембран. Як видно з рисунка 1, під впливом токсину у тварин всіх вікових груп різко знижувалася активність СДГ, причому прямої залежності цього показника від інтенсивності реакцій ПОЛ не спостерігалося. Так, якщо вільнорадикальні процеси максимально активувалися в молодих щурів,

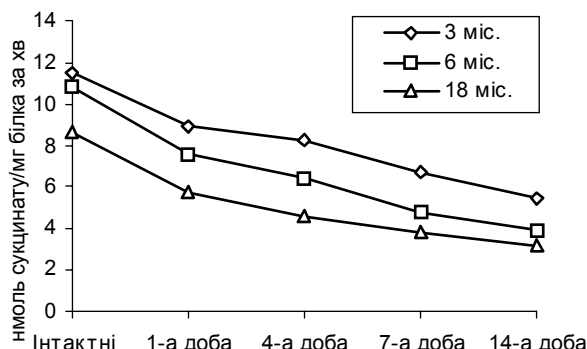


Рис. 1. Динаміка активності СДГ у печінці щурів різних вікових груп, отруєних хлоридом кадмію.

ВИСНОВКИ. 1. Інтоксикація хлоридом кадмію призводить до значної активації процесів ліпопероксидації в крові й печінці. Найбільш виражено процеси ПОЛ інтенсифікуються в молодому віці, що, очевидно, є наслідком підвищеного вмісту в тканинах організму молодих тварин субстратів вільнорадикальних реакцій – ненасичених жирних

кислот, а також функціональної недостатності системи антиоксидного захисту.

2. Кадмієвий токсикоз викликає порушення функціонування енергозабезпечувальних ферментів: сукцинатдегідрогенази і протонної АТФ-ази. Ці порушення, очевидно, є наслідком активації процесів ліпопероксидації і деструктуризації мембран мітохондрій.

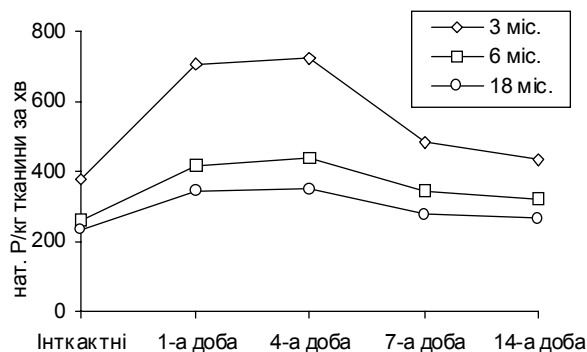


Рис. 2. Динаміка активності протонної АТФ-ази в мітохондріях печінки щурів різних вікових груп, отруєних хлоридом кадмію.

кислот, а також функціональної недостатності системи антиоксидного захисту.

3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.

ЛІТЕРАТУРА

1. Богомазов М.Я., Волкова Н.А. Особенности метаболизма кадмия при различных путях его поступления в организм // Гиг. и сан. – 1984. – № 5. – С. 95-97.

2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Мир, 1972. – 252 с.

4. Губский Ю.И. АТФ-азная активность митохондрий печени крыс при остром отравлении тетра-хлорметаном // Укр. биохим. журн. – 1982. – № 1. – С. 46-50.

5. Прохорова М.П. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд. ЛГУ, 1982. – 168 с.

6. Русакова Н.В., Мухамбетова Л.Х., Пиртагия Н.В. и др. Оценка опасности промышленных отходов, содержащих тяжелые металлы // Гиг. и сан. – 1988. – № 4. – С. 27-30.

7. Франк Г.М., Кондрашева Е.И., Мохова Е.И. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. – М.: Наука, 1973. – 221 с.

8. Циганенко О.І., Матасар І.Т., Торбін В.Ф. Основи загальної, екологічної та харчової токсикології. – К.: Чорнобильінтернформ, 1988. – 172 с.

9. Farber J.L. Toxic injury of the liver. – New York: Acad. Press., 1979. – 315 p.

10. Fretcher B.L., Dillard C.I., Tappel A.L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues // *Analyt. Biochem.* – 1973. – № 2. – P. 2-9.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ ЭНЕРГООБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ КАДМИЕВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Я.И. Гонский, С.А. Ястремская

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Под влиянием хлорида кадмия существенно активируются процессы липопероксидации в плазме крови и печени экспериментальных животных. Наиболее существенные изменения наблюдаются в молодом возрасте. Активация реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) при кадмиевой интоксикации вызывает изменения активности энергообеспечивающих ферментов: сукцинатдегидрогеназы и протонной АТФ-азы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: возраст, кадмиевая интоксикация, процессы липопероксидации, энергообеспечивающие ферменты.

AGE PECULIARITIES OF THE DISTURBANCES OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES AND ACTIVITY OF SOME MITOCHONDRIAL ENZYMES AT CADMIUM INTOXICATION

Ya.I. Honsky, S.A. Yastremska

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Cadmium chloride was found to be the potent activator of free radical oxidation processes in blood plasma and liver of experimental rats. The most significant changes were found in young animals. Activation of lipid peroxidation at cadmium toxicosis results in changes of activity of enzymes involving in energy metabolism – succinate dehydrogenase and protone ATP-ase.

KEY WORDS: age, cadmium intoxication, processes of lipoperoxidation, enzymes of energy metabolism.

Отримано 28.02.2000 р.

Адреса для листування: С.О. Ястремська, кафедра медичної хімії, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, 46001, Тернопіль, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ 4-ТІОПОХІДНИХ ХІНОЛІНУ

О.А. Бражко, Л.О. Омелянчик, І.Ф. Беленічев, І.С. Шестакова, М.П. Завгородній
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Проведено дослідження біологічної дії 4-тіохінолінів та їх S-заміщених. Встановлено вплив природи замісника в хіноліновому циклі на характер та силу фармакологічної дії. Показано перспективність пошуку в даному ряду сполук речовин з антиоксидною та анальгетичною дією.

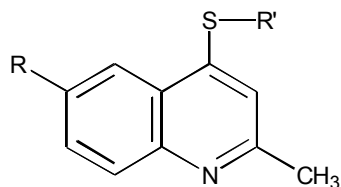
КЛЮЧОВІ СЛОВА: 4-тіохіноліни, фармакологічний скринінг, антиоксиданти, анальгетики.

Похідні хіноліну привертають до себе увагу багатьох дослідників перш за все як потенційні антимікробні засоби [14]. Проведені останнім часом дослідження S-похідних 2- і 4-тіохінолінів свідчать про перспективність пошуку серед даного ряду сполук не тільки речовин з антибактеріальною дією [9, 10], а і з нейротропною, ранозагоюючою, анальгетичною та протизапальною активністю [2, 9]. Вивчення гетерилтіокарбонів як потенційних антиоксидантів та протишлемуних лікарських препаратів [1] і створення на основі 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтової кислоти ори-

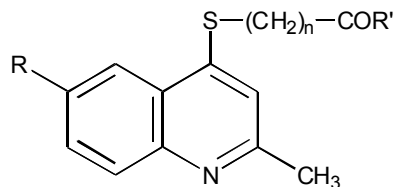
гінального синтетичного препарату комплексної дії – тіотриазоліну [4] дозволяють вважати, що серед відповідних 4-тіопохідних хіноліну можливі аналогічні види фармакологічної дії.

Мета нашої роботи полягала у вивченні діуретичної, анальгетичної, протизапальної та антиоксидної активності хінолінових похідних.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сполуки, що досліджувались, було синтезовано на кафедрі біохімії та імунології з курсом хімії Запорізького державного університету. Вони мають таку структуру:



I – V



VI – XXIII

I – R = H, R' = H; II – R = OCH₃, R' = H; III – R = OC₂H₅, R' = H; IV – R = H, R' = 2-метил-4-хіноліл; V – R = OCH₃, R' = 2-метил-6-метокси-4-хіноліл; VI – R = H, n = 1, R' = OH; VII – R = H, n = 1, R' = OH·HCl; VIII – R = H, n = 1, R' = OCH₃; IX – R = H, n = 1, R' = OC₂H₅; X – R = H, n = 1, R' = ONa; XI – R = H, n = 1, R' = NHNH₂; XII – R = H, n = 1, R' = NHN = CH-C₆H₅; XIII – R = OCH₃, n = 1, R' = OH; XIV – R = OCH₃, n = 1, R' = OH·OH(CH₂)₂NH₂; XV – R = OCH₃, n = 1, R' = OHNH(C₂H₅)₂; XVI – R = OCH₃, n = 1, R' = OH·морфолін; XVII – R = OCH₃, n = 1, R' = OCH₃; XVIII – R = OCH₃, n = 1, R' = OC₂H₅; XIX – R = OCH₃, n = 1, R' = NHNH₂; XX – R = OCH₃, n = 2, R' = OH; XXI – R = OCH₃, n = 2, R' = ONa; XXII – R = OC₂H₅, n = 1, R' = OH; XXIII – R = OC₂H₅, n = 1, R' = OH.

Антиоксидну активність (АОА) речовин у дослідах *in vitro* вивчали на трьох моделях ініціювання вільнорадикального окислення (ВРО): неферментативне ініціювання (НФІ), ферментативне ініціювання (ФІ), інгібування супероксидрадикала. Неферментативне ініціювання ВРО моделювали в суспензії яйцевих

ліпопротеїнів, додаючи солі заліза (II) [8]. Ферментативне ініціювання ВРО проводили в гомогенаті мозкової тканини білих щурів лінії Вістар, в який додавали надлишок нікотинамідаденіндинуклеотиду фосфату відновленого (НАДФ·Н₂) [13]. АОА оцінювали у відсотках гальмування утворення кінцевого продукту ВРО – малонового діальдегіду (МДА) [3].

АОА на початковій стадії розвитку ВРО оцінювали шляхом інгібування супероксид-

© О.А. Бражко – к.фарм.н., Л.О. Омелянчик – д.фарм.н., проф., І.Ф. Беленічев – к.фарм.н., І.С. Шестакова, М.П. Завгородній, 2001.

радикала в реакції автоокислення адреналіну в адренохром у лужному середовищі, що призводить до утворення активної форми кисню – супероксидрадикала [11].

Гостру токсичність визначали в дослідах на білих безпородних мишах масою тіла 18-25 г за методом Кербера [5]. Антиексудативну активність вивчали на моделі формалінового набряку в щурів-самців лінії Вістар масою 180-250 г [12]. Сполуки вводили внутрішньочеревинно за 1 годину до введення флогагену. Флогаген (2 % розчин формаліну) у дозі 0,1 мл вводили субплантально в задню праву лапу. Об'єм лап вимірювали до початку експерименту і через 4 та 24 год після введення флогагену за допомогою водяного онкометра. Антиексудативну дію сполук порівнювали із впливом бутадіону та вольтарену (вводили в дозі 100 і 10 мг/кг відповідно). Згідно з рекомендаціями щодо експериментального вивчення нестероїдних протизапальних речовин [15], підраховували відсоток пригнічення набряку.

Аналгетичну дію визначали на білих щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 150-230 г (по 7 тварин у кожній серії) на моделі "оцтовокислих судом" [12]. Судоми викликали внутрішньочеревинним введенням розчину 0,75 % оцтової кислоти в об'ємі 1 мл на 100 г

щура (контрольна група). Іншій групі тварин внутрішньочеревинно вводили сполуки за 30 хвилин до введення оцтової кислоти. За еталон порівняння було взято анальгін, який вводили внутрішньочеревинно третій групі тварин за 30 хвилин до введення оцтової кислоти в дозі 50 мг/кг. Розрахування кількості судом проводили за 15 хвилин після введення оцтової кислоти протягом 30 хвилин. За показник аналгетичної дії брали зменшення кількості судом відносно до контролю.

Вплив речовин на сечовидільну функцію нирок вивчали на білих щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 180-250 г за методом Є.Б. Берхіна [7]. Як препарати порівняння в експерименті було використано гіпотіазид, який вводили перорально в дозі 50 мг/кг, та пітуїтрин – у дозі 0,1 мл/100 г (5 ОД в 1 мл).

Речовини, які досліджувались, вводили в дозі 0,1 ЛД₅₀ у вигляді водної суспензії, яку стабілізували твіном-80, або у вигляді розчину (водорозчинні сполуки). Результати досліджень обробляли статистично. Достовірними вважали результати при $p < 0,05$ [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження АОА (табл. 1) показали, що всі сполуки проявляють активність на

Таблиця 1 – Антиоксидна активність 4-тіопохідних хіноліну

Сполука	Неферментативне ініціювання		Ферментативне ініціювання		Інгібування супероксидрадикала	
	МДА, ммоль/л	АОА, %	МДА, ммоль/л	АОА, %	Оптична густина	АОА, %
VII	3,71±0,33	37,9	0,98±0,02	48,4	0,120±0,003	42,9
VIII	3,88±0,44	34,2	0,98±0,08	48,4	0,130±0,003	38,1
X	4,00±0,21	31,5	1,05±0,09	37,1	0,150±0,008	28,6
Інтакт	0,88±0,02	–	0,66±0,02	–	–	–
Контроль	5,44±0,31	–	1,28±0,04	–	0,210±0,005	–
I	2,01±0,07	75,8	0,85±0,02	50,0	0,140±0,002	33,4
II	2,11±0,09	74,1	0,77±0,06	58,8	0,160±0,001	23,8
III	2,91±0,07	55,4	0,81±0,08	54,1	0,165±0,002	21,4
XI	3,00±0,07	53,3	0,93±0,03	40,0	0,175±0,001	16,7
XIV	3,24±0,10	47,7	0,93±0,03	40,0	0,160±0,002	23,8
XX	3,00±0,09	53,3	1,00±0,07	31,8	0,160±0,002	23,8
XXI	2,88±0,11	56,1	0,90±0,07	43,5	0,170±0,001	19,0
XXIII	3,05±0,11	52,1	0,95±0,07	37,6	0,170±0,001	19,0
Інтакт	1,00±0,09	–	0,42±0,07	–	–	–
Контроль	5,28±0,14	–	1,27±0,11	–	0,210±0,001	–
Дибунол	3,68±0,05	37,4	–	–	–	–
α-Токоферолу ацетат	4,42±0,12	20,1	–	–	–	–
Метіонін	–	–	1,03±0,04	28,2	–	–
Унітіол	–	–	1,00±0,06	31,8	–	–
Сечовина	–	–	–	–	0,130±0,004	38,1
Контроль	–	–	–	–	0,200±0,005	–

Примітка. Сполуки, що досліджувались, використовували в дозах: ФІ ВРО – 0,38 ммоль/л; НФІ ВРО – 1,5 ммоль/л; інгібування супероксидрадикала – 0,25 ммоль/л; концентрація дибунолу, α-токоферолу ацетату, метіоніну, унітіолу, сечовину становила 3,0; 2,5; 0,76; 0,76; 0,15 мг/л.

трьох моделях ініціювання ВРО у дослідях *in vitro*. 4-Меркаптохіноліни (I, II, III) мають АОА, яка перевищує дію еталонів порівняння на 20-40 %. Це підтверджує той факт, що сульфгідрильна група (-SH) значно впливає на процеси ВРО [14].

Вивчення гострої токсичності досліджуваних речовин (табл. 2) показало, що їх більшість можна віднести до класу помірно або малотоксичних речовин. LD_{50} вивчених сполук становлять 110-1450 мг/кг. 2-Метил-4-меркаптохінолін (I) та його S-карбоксіалкілпохідні не володіють антиексудативним ефектом. Введення 6-ОСН₃ та 6-ОС₂H₅ груп сприяє появі слабкої антизапальної дії, яка значно поступається впливу препаратів порівняння. Цікавим є той факт, що багато досліджених сполук на моделі "оцтовокислих судом" проявляють аналгетичну дію (табл. 2). Найбільша активність властива 4-меркаптохінолінам (II, III), які мають 6-ОСН₃-та 6-ОС₂H₅- замісники, а також S-(2-метилхіноліл-4-)тіооцтової кислоти (VI) і похідним S-(2-метил-6-метоксихіноліл-4-)тіооцтової кислоти (XIV, XVII, XVIII), які за аналгетичним впливом знаходяться на рівні еталону порівняння – анальгін або у випадку сполук XVII, XVIII

(відповідно метиловий та етиловий естери S-(2-метил-6-метоксихіноліл-4-)тіооцтової кислоти) навіть перевищують за дією еталон.

У зв'язку з тим, що останнім часом серед похідних хіноліну виявлено речовини з вираженим діуретичним ефектом, було цікаво вивчити вплив 4-тіопохідних хіноліну на функцію нирок. Діуретична дія досліджених речовин також значною мірою визначається замісниками в 6-у положенні хіноліну. Так, введення 6-ОСН₃ групи (сполуки XVI, XVII, XXI) сприяє появі діуретичної дії, а введення етоксигрупи в 6-е положення хінолінового циклу (сполуки III, XXII, XXIII) – антидіуретичної.

ВИСНОВКИ. 1. Для досліджених 4-тіохінолінів на трьох моделях ініціювання ВРО властива виражена антиоксидна активність.

2. Аналіз залежності "структура – дія" показує, що замісники в 6-у положенні хінолінового циклу значно впливають на характер та силу фармакологічної дії.

3. Проведені експерименти вказують на перспективність подальшого вивчення 4-тіохінолінів, як перспективних антиоксидантів та аналгетиків.

Таблиця 2 – Гостра токсичність, аналгетична та діуретична активність 4-тіопохідних хіноліну

№ сполуки	LD_{50} , мг/кг	Зменшення кількості "оцтовокислих судом", %	Діуретична активність, % відносно контролю	
			за 2 години	за 4 години
I	142±10	Відсутнє	93	87
II	284±15	50	116	129
III	695±31	55	80	76
IV	895±34	Відсутнє	95	95
V	1450±56	18	163	140
VI	360±11	58	144	134
VII	110±16	20	107	108
VIII	285±19	26	100	110
IX	135±14	16	107	127
X	505±32	Відсутнє	94	98
XI	305±18	Відсутнє	104	100
XII	305±16	Відсутнє	–	–
XIII	810±37	38	105	102
XIV	705±44	50	–	–
XV	640±38	5	97	95
XVI	395±19	31	115	124
XVII	385±14	79	175	156
XVIII	315±19	65	91	88
XIX	395±26	16	–	–
XX	735±38	28	–	–
XXI	695±24	42	128	127
XXII	>1000	35	88	95
XXIII	350±31	30	100	77
Анальгін	–	56	–	–
Гіпотіазид	–	–	155	164
Пітуїтрин	–	–	–	70

Примітка. " – " – сполука на даний вид активності не досліджувалась.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авраменко М.О., Беленічев І.Ф., Нестерова Н.О. Пошук біологічно активних сполук у ряду похідних 3-алкіл-4-аміно-5-тіо-1,2,4-тріазолу // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. статей. – Запоріжжя, 1997. – Вип. 1. – С. 13-16.
2. А.С. 1453844 СССР, МКИ 4 С 07 Д 215/36, А61 К 31/47. Пиперидиновая соль 2-метил-6-метоксихинолил-4-меркаптоуксусной кислоты, обладающая ранозаживляющей активностью / А.А. Мартыновский, А.А. Бражко, В.Р. Стец и др. – № 4210750/28-04; Заявлено 16.03.87. – (Не подл. публ.).
3. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41-46.
4. Беленічев І.Ф., Коваленко С.І., Мазур І.А. Классификация, механизмы действия и перспективы создания антиоксидантных средств (обзор) // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. статей. – Запоріжжя, 1999. – Вип. 4. – С. 61-75.
5. Беленький М.А. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – 2-е изд. – Л.: Медгиз, 1963. – 152 с.
6. Березовский В.А. Метод ускоренной статистической обработки по константной формуле: Сб. научн. тр. – Фрунзе, 1971. – С. 10-13.
7. Берхин Е.Б. Методы изучения влияния новых химических соединений на функцию почек // Хим.-фармац. журн. – 1977. – 11, № 5. – С. 3-11.
8. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М.: Медицина, 1989. – 367 с.
9. Бражко О. А. Дослідження антимікробної дії 2-тіопохідних хіноліну // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. статей. – Запоріжжя, 1999. – Вип. 4. – С. 23-26.
10. Бражко О.А. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-гідразоно-хінолінів, іліденгідрозидів хіноліл-2-тіокарбонових кислот // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: Зб. наук. статей. – Запоріжжя, 1997. – Вип. 1. – С. 17-20.
11. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
12. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
13. Коваленко С.І., Мазур І.А., Беленічев І.Ф. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних N-(4-хіназоліл)аміно-арилкарбонових кислот // Вісник фармації. – 1999. – № 20 (2). – С. 31-35.
14. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Медицина, 1994. – Ч. 2. – 528 с.
15. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ / Под ред. Ф.П. Тринуса. – М., 1983. – 11 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ 4-ТИОПРОИЗВОДНЫХ ХИНОЛИНА

А.А. Бражко, Л.А. Омелянчик, И.Ф. Беленічев, І.С. Шестакова, М.П. Завгородний
ЗАПОРІЖСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Резюме

Проведено дослідження біологічного діяння 4-тіохінолінів і їх S-заміщених. Установлено вплив природи замісителя в хіноліновому циклі на характер і силу фармакологічного діяння. Показано перспективність пошуку в даному ряду сполук з антиоксидантним і анальгетичним діянням.

КЛЮЧЕВІ СЛОВА: 4-тіохіноліни, фармакологічний скринінг, антиоксиданти, анальгетики.

INVESTIGATIONS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY 4-THIOQUINOLINES

A.A. Brazhko, L.A. Omelyanchyk, I.F. Belenichev, I.S. Shestakova, M.P. Zavgorodny
ZAPORIZHZHIA STATE UNIVERSITY

Summary

The investigations of biological activity of 4-thioquinolines and their S-substitutors have been conducted. Pharmacological screening shows, that substituents of the quinoline considerably influence on character and the force of biological activity. The prospective search was shown in the presented row of the combinations with the oxidant and analgetic activity.

KEY WORDS: 4-thioquinolines, pharmacological screening, antioxidants, analgetics.

Отримано 17.11.2000 р.

Адреса для листування: О.А. Бражко, кафедра біохімії та імунології з курсом хімії, Запорізький державний університет, вул. Запорізького козацтва, 15/144, 69091, Запоріжжя, Україна.

ВПЛИВ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ НА АКТИВНІСТЬ Na/K/Cl-КОТРАНСПОРТУ ТА Na/Li-ПРОТИТРАНСПОРТУ В БЕТА-КЛІТИНАХ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРА

А.Д. Бобровник, А.В. Шкаволяк, Н.М. Гринчишин, А.В. Манченко
Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького

Вивчено кінетику об'єм-індукованих модуляцій Na/K/Cl-котранспорту та Na/Li-протитранспорту в бета-клітинах підшлункової залози щура. Встановлено значне збільшення швидкості обидвох систем іонної транслокації при гіперосмотичному зморщуванні клітин. При їх гіпоосмотичному набуханні спостерігали зменшення швидкості Na/K/Cl-котранспорту, а швидкість Na/Li-протитранспорту не відрізнялась від встановленої при перебуванні бета-клітин в ізоосмотичному середовищі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: Na/K/Cl-котранспорт, Na/Li-протитранспорт, об'єм клітин, острівці Лангерганса.

ВСТУП. Властивістю клітин низки різноманітних таксономічних груп є осмотична модуляція систем іонного транспорту. Об'ємна регуляція, що виникає як протиплив при перетвореннях нормоцитів у макро- або мікроцити, в основному базується на змінах нетто-потоків K^+ , Na^+ та Cl^- [1, 4]. Досконалість функціонування транспортерів, що здійснюють транслокацію моновалентних іонів, забезпечується овабаїн-резистентними механізмами, які належать до об'ємзбільшувальних або об'ємзменшувальних систем. Збереження нормального клітинного об'єму залежить від добре скоординованого співвідношення між обома протилежними процесами. Хоч більшість із цих іон-транспортуючих механізмів є ідентифікованими та різнобічно вивченими в еритроцитах [6, 8], є ще мало відомостей про їх властивості в клітинах органів травного тракту. Метою цієї роботи було встановлення залежності швидкості Na/K/Cl-котранспорту та Na/Li-протитранспорту від зумовлених осмотичним стресом змін об'єму бета-клітин, виділених із підшлункової залози щура.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих щурах-самцях масою 150-220 г. Після декапітації експериментальних тварин під легким ефірним наркозом бета-клітини з острівців Лангерганса ізолювали за методом [5] із застосуванням колагенази фірми "Mergsk". Життєздатність бета-клітин оцінювали за посередництвом трипанового голубого. Необхідних величин осмоляльності

© А.Д. Бобровник – к.м.н., А.В. Шкаволяк, Н.М. Гринчишин – к.х.н., А.В. Манченко – к.т.н., 2001.

інкубаційного середовища досягали додаванням до сольових розчинів відповідної кількості сахарози, контролюючи названий показник осмометром типу "ОМКА Ц-01". Про об'єм клітин свідчив вміст внутрішньоклітинної води.

Вимірювання концентрації Na^+ і K^+ в клітинах та інкубаційних середовищах здійснювали методом полум'яної фотометрії на фотометрах "Plapho-4", "Carl Ceiss", "Jena". Відповідні стандарти названих іонів готували на розчинах хлористого тетраметиламонію і $MgCl_2$. Швидкість Na/K/Cl-котранспорту визначали за приростом концентрації Na^+ в процесі інкубації клітин у присутності овабаїну та фуросеміду, а швидкість Na/Li-протитранспорту – за різницею концентрації Na^+ в нульовий та кінцевий час інкубації, яку здійснювали у присутності вказаних транспортних інгібіторів, наявності та відсутності LiCl [2]. Стратегія запланованого дослідження враховувала той очевидний факт, що овабаїн, присутній навіть в ізоосмотичному середовищі, здатен викликати набухання клітин внаслідок розвитку структурних змін Na/K-АТФази, яка за таких умов швидко переходить у позаклітинне середовище [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Ізольовані бета-клітини інкубували в середовищах, що містили певну кількість Na^+ , K^+ та Cl^- та овабаїн в концентрації 5,0 мМ. Протягом 20-хвилинного зрівноважувального періоду клітинний об'єм залишався практично незмінним (рис. 1). Однак після 20-хвилинного періоду інкубації індуковане овабаїном набухання клітин ставало статистично значущим і

залишалось таким протягом усього подальшого спостереження, яке в цілому тривало 60 хв. Особливості змін об'єму бета-клітин вивчали також при додатковій присутності в інкубаційному середовищі іншого інгібітора іонного транспорту – фуросеміду. Як показано на рисунку 2, фуросемід у концентрації 1,0 мМ запобігав овабаїн-зумовленому набуханню клітин, інкубованих в ізоосмотичному середовищі.

Динамічна регуляція об'єму більшості еукаріотичних клітин визначається змінами іонних транспортерів, завдяки функціонуванню яких здійснюються Na/K/Cl-котранспорт та Na/Li-протитранспорт. У зв'язку з цим, нами проведено поєднане вимірювання об'єму бета-клітин, інкубованих у розчинах різної осмоляльності (200, 300 або 400 мосМ) при наявності овабаїну та фуросеміду, та швидкості вказаних механізмів транслокації моновалентних іонів.

Витримування бета-клітин в інкубаційному середовищі, осмоляльність якого сягала 400 мосМ, при відсутності транспортних інгібіторів проявлялось зменшенням кількості внутрішньоклітинної води на 12 % стосовно значень, зареєстрованих при застосуванні ізоосмотичного середовища (табл. 1). При внесенні в гіперосмотичне інкубаційне середовище овабаїну (5,0 мМ) об'єм бета-клітин залишався незмінним стосовно попередніх значень, тоді як при впливі ізоосмотичного середовища, що містило овабаїн вказаної концентрації, кількість внутрішньоклітинної води була на 19,6 % більшою, ніж при відсутності названого інгібітора. Додаткова наявність у гіперосмотичному середовищі фуросеміду (1,0 мМ) не впливала на кількість внутрішньоклітинної води, проте цей показник був на 12,0 % нижчим, ніж такий при інкубації клітин в ізоосмотичному середовищі. Оче-

видно, вплив фуросеміду за умов гіперосмоляльності проявляється підвищенням калієвої проникності плазматичної мембрани бета-клітин, хоча, згідно з даними літератури, спосіб гіпертонічного шоку на процеси об'ємної регуляції клітин продовжує залишатись контраверсійним [4]. Ситуація ускладнюється тим, що експериментальна кінетика змін об'єму клітин істотно відрізняється від такої, передбаченої теоретично рівнянням Бойля-ван Гоффа, оскільки осмотична відповідь повинна встановитись як функція зовнішнього осмотичного тиску [10].

На 60-й хвилині інкубації бета-клітин у гіпоосмотичному розчині (200 мосМ) вміст внутрішньоклітинної води істотно збільшувався (табл. 1). Вплив овабаїну на ефект гіпотонічного шоку як при відсутності, так і при наявності фуросеміду проявлявся поверненням об'єму клітин до вихідного рівня. Однак при спробі пояснення механізмів розвитку такого явища слід мати на увазі здатність бета-клітин до регуляторного зменшення їх об'єму навіть при відсутності інгібіторів іонної транслокації.

Виявлений нами тип об'ємного контролю базується в основному на модуляції властивостей діуретик-чутливої Na/K/Cl-котранспортної системи, як це встановлено і для клітин інших типів [9]. Проте зміни об'єму бета-клітин можуть бути пов'язаними не лише з котранспортними, але й протитранспортними потоками іонів, серед яких провідна роль належить Na/H-обміну та його різновидностям: Na/Li- та Na/Na-протитранспорту [10]. Для додаткової перевірки правильності цього положення нами проведено вимірювання швидкостей Na/K/Cl-котранспорту та Na/Li-протитранспорту в бета-клітинах, інкубованих у середовищах різної осмоляльності: 200, 300 та 400 мосМ.

Витримування бета-клітин у гіперосмотичному середовищі призводило до їх стискування, що супроводжувалось, як це впливає

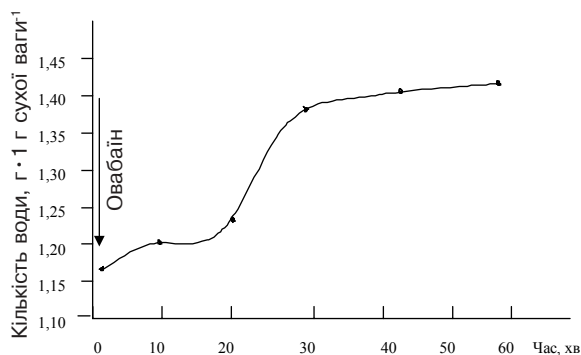


Рис. 1. Зміни об'єму бета-клітин щура, індукованих дією 5,0 мМ овабаїну. Про об'єм клітин свідчив вміст у них внутрішньоклітинної води. Осмоляльність інкубаційного середовища – (295±5) мосМ.

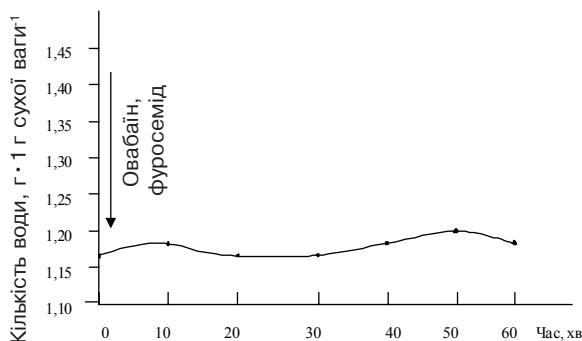


Рис. 2. Запобігання овабаїн-залежному набуханню бета-клітин щура дією 1,0 мМ фуросеміду. Осмоляльність інкубаційного середовища – (295±5) мосМ.

Таблиця 1 – **Об'єм бета-клітин, інкубованих в ізо-, гіпо- та гіперосмотичному середовищах при наявності інгібіторів іонного транспорту. Кількість води визначали після 60-хвилинної інкубації при температурі 37°C**

	Кількість води, г · 1 г сухої ваги ⁻¹	Овабаїн-чутливі зміни об'єму, %	Овабаїн+фуросемід-чутливі зміни об'єму, %
300 мосМ, n=6			
а) при відсутності інгібіторів	1,17±0,15	+19,6	+0,8
б) +5,0 мМ овабаїну	1,40±0,09		
в) +5,0 мМ овабаїну +1,0 мМ фуросеміду	1,18±0,13		
400 мосМ, n=6			
а) при відсутності інгібіторів	1,03±0,11	-12,0	-12,0
б) +5,0 мМ овабаїну	1,00±0,09	-3,0	
в) +5,0 мМ овабаїну +1,0 мМ фуросеміду	1,03±0,13		
200 мосМ, n=6			
а) при відсутності інгібіторів	2,10±0,23	+79,5	-1,7
б) +5,0 мМ овабаїну	1,20±0,13	+2,5	
в) +5,0 мМ овабаїну +1,0 мМ фуросеміду	1,15±0,14		

Таблиця 2 – **Швидкість Na/K/Cl-котранспорту та Na/Li-протитранспорту (мМ · 1 л клітин⁻¹ · 1 год⁻¹) в бета-клітинах, інкубованих у середовищах різної осмоляльності (37 °С; 60 хв)**

Осмоляльність середовища	Na/K/Cl-котранспорт		Na/Li-протитранспорт	
	M±m	Відсоток відхилення від контролю (300 мосМ)	M±m	Відсоток відхилення від контролю (300 мосМ)
300 мосМ, n=6	0,308±0,032		0,495±0,050	
400 мосМ, n=6	0,485±0,041*	157	0,781±0,062*	158
200 мосМ, n=6	0,201±0,023*	65	0,480±0,054	97

Примітка. * – p<0,05 порівняно з контролем.

з наведених у таблиці 2 результатів, достовірним зростанням швидкостей обидвох систем іонної транслокації. При інкубації цих клітин у гіпоосмотичному середовищі, коли відбувалось їх набухання, що утримувалось протягом усього періоду спостереження, швидкість трансмембранного перенесення іонів шляхом Na/K/Cl-котранспорту зменшувалась, а швидкість Na/Li-протитранспорту не відрізнялась від такої, встановленої при перебуванні бета-клітин в ізоосмотичному середовищі.

ВИСНОВОК. Як свідчать дані літератури [7] та результати нашого спостереження, інкубація клітин у гіпоосмотичному середовищі призводить до пригнічення активності овабаїн-

резистентного співпряженого транспорту моновалентних іонів. Однак інтенсивний рух Na⁺ у внутрішньому напрямку внаслідок підвищення пасивної проникності плазматичних мембран для цього іона зумовлює Na-перевантаження клітин, що є основною причиною збільшення їх об'єму.

Інгібітори іонного транспорту здатні змінювати діапазон стабілізації об'єму бета-клітин підшлункової залози щура навіть при витриманні клітин у середовищі фізіологічної осмоляльності [3, 9]. Тому коливання клітинного об'єму за використаних експериментальних умов навряд чи можна оцінювати як специфічні для осмотичних впливів інкубаційного середовища.

ЛІТЕРАТУРА

1. Веремин А.А., Глушанкова Л.Н., Рубашкин А.А. Роль ионных транспортеров в долговременной регуляции содержания воды в животных

клетках. Математическая модель и реальные лимфоидные клетки // Цитология. – 1995. – **37**, № 12. – С.1151-1166.

2. De la Sierra P. Actividad los sistemas de transport $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-Cl}^-$, countertransport $\text{Na}^+\text{-Li}^+$, difusion pasiva de Na^+ en hipertension arterial esencial // Med. Clin. – 1988. – **90**. – P. 187-189.

3. Franchi-Gazzola R., Visigalli R., Bussolati O. et al. Role of concentration and size of intracellular macromolecules in cells volume regulation // Am. J. Physiol. – 1997. – **274**. – P. 360-370.

4. Al-Habori M. Cell volume and ion transport regulation // Intern. J. Biochem. – 1994. – **26**, № 3. – P. 319-334.

5. Lacy P.E., Kostianovsky M. Method for isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas // Diabetes. – 1967. – **16**. – P. 35-45.

6. Mairbaure H., Hoffman J. The number of $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -cotransport copies in the membrane determines its contribution of steady-state red cell volume //

FASEB Journal. – 1989. – **3**, № 3. – P.579.

7. O'Donnel M.E., Brandt J.D., Curry F.R. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-Cl}^-$ cotransport regulates intracellular volume and monolayer permeability of trabecular meshwork cells // Am. J. Physiol. – 1995. – **268**, № 4, Pt.1. – P. 1067-1074.

8. O'Neill W.C., Coker S.T. Characterization of Cl-dependent K-transport in an isolated population of volume regulating human red cells // J. Gen. Physiol. – 1988. – **92**, № 6. – P. 39-42.

9. O'Neill W.C., Klein J.D. Regulation of vascular endothelial cell volume by $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ -cotransport // Am. J. Physiol. – 1992. – **262**, № 2, Pt. 1. – P. 436-444.

10. Post M.A., Dawson D.S. Basolateral $\text{Na}^+\text{-H}^+$ antiporter. Mechanisms of electroneutral and conductive ion transport // J. Gen. Physiol. – 1994. – **103**, № 5. – P. 895-916.

ВЛИЯНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -КОТРАНСПОРТА И $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -ПРОТИВОТРАНСПОРТА В БЕТА-КЛЕТКАХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫСЫ

А.Д. Бобровник, А.В. Шкаволяк, Н.М. Гринчишин, А.В. Манченко
ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

Изучено кинетику объем-индуцированных модуляций $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -котранспорта и $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -противотранспорта в бета-клетках поджелудочной железы крысы. Установлено значительное увеличение скорости обеих систем ионной транслокации при гиперосмотическом сморщивании клеток. При их гипоосмотическом набухании наблюдали уменьшение скорости $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -котранспорта, а скорость $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -противотранспорта не отличалась от установленной при пребывании бета-клеток в изоосмотической среде.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -котранспорт, $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -противотранспорт, объем клеток, островки Лангерганса.

EFFECT OF OSMOTIC STRESS ON ACTIVITY OF $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -COTRANSPORT AND $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -COUNTERTRANSPORT IN RAT PANCREATIC BETA-CELLS

A.D. Bobrovnyk, A.V. Shkavolyak, N.M. Hrynchyshyn, A.V. Manchenko
LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The kinetics of the volume-induced modulation of $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -cotransport and $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -countertransport in rat pancreatic beta-cells was studied. The significant increase in the rate of these transport systems is observed after hypertonic shrinkage, but suppressing of the activation of $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -cotransport by hypotonic swelling was registered. Preincubation of cells in hipotonic medium has no effect on the rate of $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -countertransport.

KEY WORDS: $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{/Cl}^-$ -cotransport, $\text{Na}^+\text{/Li}^+$ -countertransport, cells volume, islets of Langerhans.

Отримано 16.10.2000 р.

Адреса для листування: А.В. Шкаволяк, вул. Купальська, 32/1, 79037, Львів-37, Україна.

СТАН ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВОГО ОБМІНУ ТА ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ В ДІТЕЙ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

І.Є. Сахарова

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Установлено, що в дітей із цукровим діабетом на фоні зниження мінеральної щільності кісткової тканини мають місце порушення фосфорно-кальцієвого обміну та кісткового метаболізму у вигляді гіпокальціємії, гіпофосфатемії та підвищення рівня вільної фракції оксипроліну в сироватці крові, особливо при тяжких ступенях остеопенії та остеопорозі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: діти, цукровий діабет, кальцій, фосфор, кістковий метаболізм.

ВСТУП. Відомо, що інсуліну, крім регуляції вуглеводного та жирового обміну, притаманна багатовекторність біологічної дії на організм. Доведено його роль у стимуляції синтезу кісткового матриксу і, як наслідок, розвиток при інсуліновій недостатності остеопорозу [6], який може виникати не тільки на пізніх стадіях інсулінозалежного цукрового діабету (ІЗЦД) у дорослих, але, як свідчать останні дослідження, й у дітей [3, 12]. У зв'язку з цим, особливої актуальності набуває паралельне вивчення кальцій-фосфорного гомеостазу та біохімічних маркерів обміну кісткової тканини при ІЗЦД у дітей, що і було метою нашої праці.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами обстежено 31 дитину з ІЗЦД віком 5-14 років. Крім загальноприйнятих при цьому захворюванні клінічних та додаткових обстежень, хворим проводили оцінку мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) за допомогою двофотонної рентгенівської денситометрії поперекового відділу хребта, визначали показники резорбції кісток (вільна фракція оксипроліну) та їх формування (лужна фосфатаза в сироватці крові) досліджували рівень загального кальцію та неорганічного фосфору в крові та їх добову екскрецію із сечею.

Оксипролін не міститься в жодному білку організму, крім колагену, і тому є специфічним маркером та чутливим індикатором його катаболізму. Колаген I типу складає близько 95 % остеоїду, і при посиленні процесів руйнування кістки підвищується рівень його

метаболітів, зокрема оксипроліну, в біологічних середовищах організму. Ми вивчали рівень вільної фракції оксипроліну в сироватці крові методом Stegemann у модифікації М.А. Осадчук та співавт. [4, 7]. У нормі вміст вільної фракції оксипроліну крові, відповідно до цієї методики, становить 33-35 мкмоль/л.

Лужна фосфатаза асоційована з мембраною остеобластів, і її рівень у сироватці крові прямо пропорційний інтенсивності процесів мінералізації кісткової тканини. Нами вивчалась каталітична концентрація загальної лужної фосфатази в крові кінетичним методом за допомогою біотест-набору виробництва фірми "Лахема" (Чехія). Норма для дітей до 14 років – 1,2-6,3 ммоль/(с·л).

Кальцій, необхідний для мінералізації кістки, сприяє збільшенню пікової маси кісткової тканини і має певний антирезорбтивний потенціал. Рівень кальцію в крові та його добову екскрецію із сечею визначали за допомогою трилонометричного титрування в присутності мурексиду, який утворює в лужному середовищі з іонами Са комплексні сполуки рожево-фіолетового забарвлення. Норма – 2,50-2,75 ммоль/л в крові та 2,5-6,2 ммоль/добу в сечі [5]. Обмін кальцію в організмі тісно пов'язаний із метаболізмом неорганічних фосфатів. Відомо, що гіперфосфатемія викликає гіпокальціємію за рахунок пригнічення кальцитоніном секреції ПТГ. Для визначення вмісту неорганічного фосфору в крові та добовій сечі застосовували уніфікований метод відновлення фосфорно-молібденової кислоти аскорбіновою кислотою до молібденового синього з наступною фотометрією. Норма для

© І.Є. Сахарова, 2001.

дітей у крові – 1,29-2,26 ммоль/л, в сечі – 12,9-42,0 ммоль/добу [5].

Одержані результати порівнювались з віковими нормами та опрацьовували методом варіаційної статистики (Г.Ф. Лакін, 1990).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За результатами денситометрії всіх обстежених дітей поділили на такі групи: хворі на ІЗЦД без змін МЩКТ (10), пацієнти із зниженою МЩКТ (21), в тому числі з остеопенією I ступеня (9), остеопенією II ступеня (4), остеопенією III ступеня (4) та остеопорозом (4).

Аналіз отриманих даних свідчить про достовірне зниження рівня кальцію в крові всіх обстежених дітей (табл. 1), при цьому у хворих на ІЗЦД без змін МЩКТ він склав (2,08±0,04) ммоль/л, а в дітей з остеопатією вміст кальцію був ще нижчим – (1,89±0,01) ммоль/л при контролі (2,62±0,14) ммоль/л (p<0,01). Зберігалась висока достовірність різниці кальцію в крові й між двома основними групами обстежених дітей: у хворих із незміненою МЩКТ – (2,08±0,04) ммоль/л, у пацієнтів з остеопатією – (1,89±0,01) ммоль/л (p<0,001). На аналогічні зміни кальцію в крові у хворих на цукровий діабет вказують і інші дослідники, пояснюючи це, перш за все, порушенням процесів всмоктування кальцію в кишечнику через недостатність вітаміну Д в організмі [1, 8]. Не виключена також роль дефіциту молочних продуктів у дієті хворих на ІЗЦД, що відмічають деякі автори [10] та підтверджують проведені нами дослідження.

Враховуючи викладене вище, ми особливо зацікавились дослідженням вмісту кальцію в крові залежно від тяжкості остеопатії. Як видно з таблиці, при легких ступенях зниження МЩКТ (остеопенія I-II ступенів) рівень кальцію хоч і зменшувався (відповідно (1,96±0,05) та

(2,05±0,02) ммоль/л), але практично не відрізнявся від аналогічного показника в дітей із нормальною МЩКТ ((2,08±0,04) ммоль/л). Разом із тим, зростання тяжкості остеопатії супроводжувалось подальшим зниженням рівня кальцію в крові, й уже при остеопенії III ступеня він сягав (1,73±0,02) ммоль/л, а при остеопорозі – (1,76±0,04) ммоль/л. В обох випадках гіпокальціємія була достовірно нижчою, порівняно з остеопенією I-II ступенів.

Таким чином, при загальній гіпокальціємії у хворих на ІЗЦД, у випадках остеопатії рівень кальцію в крові ще більше знижувався, достовірно відрізняючись як від контролю, так і від аналогічного показника в дітей із нормальною МЩКТ. Максимальних значень гіпокальціємія набувала при тяжких ступенях зниження МЩКТ (остеопенія III ступеня та остеопороз), коли рівень кальцію в крові був достовірно нижчим, ніж у дітей з остеопенією I-II ступенів.

Рівень фосфору в крові був достовірно зниженим у всіх обстежених дітей, при цьому він практично не відрізнявся у дітей із нормальною МЩКТ ((1,30±0,08) ммоль/л) і у хворих з остеопатією ((1,26±0,04) ммоль/л). Гіпофосфатемія утримувалась приблизно на цьому рівні й при остеопенії I ступеня ((1,08±0,04) ммоль/л) з подальшою тенденцією до зростання вмісту фосфору у хворих з остеопенією II-III ступенів та остеопорозом (відповідно (1,46±0,10), (1,33±0,09) та (1,41±0,04) ммоль/л). Взагалі, дані про фосфорно-кальцієвий обмін при цукровому діабеті залишаються суперечливими. Так, М.І. Балаболкін та співавт. [2] не виявили в дорослих хворих на ІЗЦД зниження показників загального кальцію та неорганічного фосфору в крові й пояснюють це вторинним гіперпаратиреозом. Отже, у хворих на ІЗЦД,

Таблиця 1 – Показники фосфорно-кальцієвого обміну та біохімічні маркери кісткового метаболізму у хворих на ІЗЦД

МЩКТ	Кількість хворих	Кальцій у крові, ммоль/л	Фосфор у крові, ммоль/л	Лужна фосфатаза, ммоль/(с*л)	Оксипролін у крові, мкмоль/л	Кальцій у сечі, ммоль/добу	Фосфор у сечі, ммоль/добу
Без змін	10	2,08±0,04*	1,30±0,08*	3,28±0,90	34,80±6,30	6,61±1,20	25,90±2,40
Знижена	21	1,89±0,01*	1,26±0,04*	3,43±0,40	46,90±5,80*	5,59±1,20	28,53±1,80
Остеопенія I ступеня	9	1,96±0,05*	1,08±0,04*	3,85±0,60	42,71±4,20	5,13±1,60	26,67±3,60
Остеопенія II ступеня	4	2,05±0,02*	1,46±0,10*	2,55±0,40*	41,88±3,30	4,56±0,80	25,88±2,20
Остеопенія III ступеня	4	1,73±0,02*	1,33±0,09*	2,94±0,90	53,17±2,40	5,49±1,70	26,50±1,60
Остеопороз	4	1,76±0,04*	1,41±0,04*	3,86±0,30	46,21±2,80	7,97±1,80	29,13±2,10
Контроль	—	2,62±0,14	1,77±0,06	3,75±0,16	32,50±2,60	4,35±0,70	27,50±1,80

Примітка. * – різниця, порівняно із контролем, достовірна.

незалежно від стану МЩКТ, відмічалось достовірне зниження рівня фосфору в крові, який мав тенденцію до зростання у випадках тяжкої остеопатії.

У подальшому дослідженні фосфорно-кальцієвого обміну визначали добову екскрецію кальцію та фосфору з сечею. Аналіз отриманих даних показав, що в дітей з ІЗЦД мала місце лише тенденція до підвищення рівня кальційурії незалежно від стану МЩКТ. Так, у дітей із незміненою МЩКТ добові втрати кальцію з сечею склали $(6,61 \pm 1,20)$ ммоль/добу, а у випадках остеопатії – $(5,59 \pm 1,20)$ ммоль/добу при контролі $(4,35 \pm 0,70)$ ммоль/добу ($p > 0,05$). Більш суттєво кальційурія зростала тільки в дітей з остеопорозом ($(7,97 \pm 1,80)$ ммоль/добу), але і в цьому випадку ріст був недостовірним ($p > 0,05$).

Таким чином, у дітей із зниженою МЩКТ спостерігалась тільки тенденція до посилення кальційурії, більш чіткою вона була у хворих з остеопорозом. Відповідно, не було і прямого зв'язку кальційурії з виявленою гіпокальціємією.

Аналогічна ситуація мала місце і при визначенні добових втрат фосфору із сечею, рівень якого як у дітей із нормальною МЩКТ ($(25,9 \pm 2,4)$ ммоль/добу), так і у хворих з остеопатією ($(28,53 \pm 1,80)$ ммоль/добу) не відрізнявся від контролю ($(27,50 \pm 1,80)$ ммоль/добу). Не залежав цей показник і від ступеня зменшення МЩКТ. Як у пацієнтів з остеопенією I ступеня, так і у дітей з остеопорозом добова екскреція фосфору із сечею була приблизно на одному рівні (відповідно $(26,67 \pm 3,6)$ та $(29,13 \pm 2,1)$ ммоль/добу). При аналізі вмісту фосфору в крові та його екскреції із сечею не було виявлено прямого зв'язку фосфатуриї з гіпофосфатемією. Більшість дослідників пояснюють гіперкальційурію та фосфатурию при цукровому діабеті порушенням реабсорбції цих речовин у канальцях нирок за рахунок гіперглікемії та осмотичного діурезу [2, 8].

Значною мірою стан кісткової тканини характеризується біохімічними маркерами її метаболізму, з яких у всіх хворих ми визначали лужну фосфатазу та вільну фракцію оксипроліну крові. За рівнем першої характери-

зують стан процесів остеогенезу, а оксипролін є маркером резорбції кістки. Аналіз отриманих результатів показав, що рівень лужної фосфатази в крові в дітей з ІЗЦД незалежно від стану МЩКТ суттєво не відрізнявся від контролю. Так, у дітей з незміненою МЩКТ цей показник склав $(3,28 \pm 0,90)$ ммоль/(с·л), а у хворих з остеопатією – $(3,43 \pm 0,40)$ ммоль/(с·л) при контролі $(3,75 \pm 0,16)$ ммоль/(с·л). У структурі остеопатій тільки при остеопенії II ступеня відмічався достовірно низький рівень лужної фосфатази крові – $(2,55 \pm 0,40)$ ммоль/(с·л), що потребує уточнення в процесі подальшої роботи. Літературні дані переважно вказують на нормальні величини лужної фосфатази в сироватці крові у хворих на ІЗЦД [9, 11].

Рівень оксипроліну в крові був достовірно підвищеним у дітей із зниженою МЩКТ ($(46,90 \pm 5,80)$ мкмоль/л), порівняно з контролем ($(32,50 \pm 2,60)$ мкмоль/л). Ця закономірність зберігалась незалежно від тяжкості остеопатії, набуваючи найбільшого вираження при остеопенії III ступеня – $(53,17 \pm 2,40)$ мкмоль/л та остеопорозі – $(46,21 \pm 2,80)$ мкмоль/л. Разом із тим, достовірна різниця між рівнем оксипроліну в крові в дітей із нормальною і зниженою МЩКТ була відсутня (відповідно $(34,80 \pm 6,30)$ та $(46,90 \pm 5,80)$ мкмоль/л). Інші дослідники також відмічають чіткий зворотний зв'язок між МЩКТ та рівнем фракцій оксипроліну в крові у хворих на цукровий діабет I типу [8, 9].

ВИСНОВКИ. 1. У дітей, хворих на ІЗЦД, незалежно від стану МЩКТ, відмічається зниження загального рівня кальцію і неорганічного фосфору в сироватці крові, ще більше він зменшується у випадках остеопатії, набуваючи максимальних значень при тяжких ступенях остеопенії та остеопорозі. При цьому добова екскреція кальцію та фосфору із сечею суттєво не змінюється.

2. У дітей з ІЗЦД, незалежно від стану МЩКТ, рівень лужної фосфатази в крові залишається в межах норми, тоді як вільна фракція оксипроліну підвищується, сягаючи максимальних значень при остеопенії III ступеня та остеопорозі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Апуховская Л.И., Стефанов М.В., Омельченко Л.И., Антипкин Ю.Г. Витамин D₃ и сахарный диабет (обзор литературы) // Журнал АМН Украины. – 1999. – 5, № 1. – С. 19-32.

2. Балаболкин М.И. Сахарный диабет. – М., 1994. – 348 с.

3. Бузько І. Щодо питання діабетичної остеопатії у дітей // IV Міжнародний конгрес студентів і моло-

дих вчених: Тези доп. – Тернопіль, 2000. – С. 252-253.

4. Крель А.А., Фурцева Л.Н. Методы определения оксипролина в биологических жидкостях и их применение в клинической практике // Вопр. мед. химии. – 1968. – **14**, № 6. – С. 635-639.

5. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 366 с.

6. Олійник В.А., Поворознюк В.В., Терехова Г.М. Вторичный остеопороз при эндокринній патології // Пробл. остеології. – 1998. – **1**, № 1. – С. 51-57.

7. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – М.: Медицина, 1969. – 376 с.

8. Чечурин Р.Е., Аметов А.С. Сахарный диабет I типа и остеопороз // Остеопороз и остеопатии. – 1999. – № 1. – С. 2-5.

9. Kayath M.J., Tavares E.F., Viera J.G.H. Prospective bone mineral density evaluation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus // J. Diab. Complications. – 1998. – **12**, № 2. – P. 133-139.

10. Lee W.T.K., Leung S.S.F., Leung D.M.Y. et al. A follow-up study on the effects of calcium-supplement withdrawal and puberty on bone acquisition of children // Amer. J. Clin. Nutr. – 1996. – **64**. – P. 71-77.

11. Miazgowski T., Andrysiak-Mamos E., Pynka S. et al. The evaluation of bone mineral density and selected markers of bone turnover in patients with insulin-dependent diabetes mellitus // Przegl. Lek. – 1997. – **54**, № 7-8. – P.533-539.

12. Pascual J., Argente J., Lopez M.B. et al. Bone mineral density in children and adolescents with diabetes mellitus type I of recent onset // Calcif. Tissue Hit. – 1998. – **62**, № 1. – P. 31-35.

СОСТОЯНИЕ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА И НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

И.Е. Сахарова

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Установлено, что у детей с сахарным диабетом на фоне снижения минеральной плотности костной ткани имеют место нарушения фосфорно-кальциевого обмена и костного метаболизма в виде гипокальциемии, гипофосфатемии и повышения уровня свободной фракции оксипролина в сыворотке крови, особенно при тяжёлых степенях остеопении и остеопорозе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **дети, сахарный диабет, кальций, фосфор, костный метаболизм.**

PHOSPHORIC-CALCIUM METABOLISM AND SOME BIOCHEMICAL MARKERS OF BONE METABOLISM IN CHILDREN WITH DIABETES MELLITUS

I.Ye. Sakharova

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

It was determined that in children with diabetes mellitus, against a background of decreased bone mineral density, phosphoric-calcium and bone metabolism disturbances such as hypocalcemia, hypophosphatemia and increased level of free oxyprolin in the blood serum take place, especially at severe levels of osteopenia and osteoporosis.

KEY WORDS: **children, diabetes mellitus, calcium, phosphorus, bone metabolism.**

Отримано 21.12.2000 р.

Адреса для листування: *І.Є. Сахарова, кафедра педіатрії, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, 46001, Тернопіль, Україна.*

**ДЛЯ ОТРИМАННЯ ОПЕРАТИВНОЇ ІНФОРМАЦІЇ ЗВЕРТАЙТЕСЯ ДО НАШОЇ
СТОРІНКИ В ІНТЕРНЕТІ:**

HTTP://WWW.TDMA.SSFT.TERNOPII.UA/JOURNALS

ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ТКАНИННОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМІНОГЕНА МЕЗОТЕЛІЮ ОЧЕРЕВИНИ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ СПАЙКОВОГО ПРОЦЕСУ

М.І. Покидько

ВІННИЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

Вивчено активність активатора плазміногена парієтальної очеревини при фармакологічній стимуляції черевних симпатичних нервів у експерименті. Доведено наявність високорелятивного зв'язку між ступенем гальмування активності активатора плазміногена при підвищеному тонусі симпатичної вегетативної регуляції та, як наслідок, вираженій тканинній ішемії та збільшеною частотою утворення і вираженням післяопераційних спайок.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тканинна ішемія, активатор плазміногена, фібринолітична активність спайковий процес, вегетативна регуляція судинного тонусу.

ВСТУП. Гіперпластичні реакції очеревини, які клінічно проявляються виникненням симптомокомплексу спайкової хвороби, в основному вивчено на тканинному та клітинному рівнях. Біохімічні процеси, що супроводжують нормальну репаративну регенерацію очеревини при різних альтернативних впливах, досліджено достатньо повно. При спотворених репаративних процесах порушуються нормальні взаємовідношення між достатністю відновлення та недосконалістю регенерації. Залишається невирішеним питання про пусковий механізм патологічного гіперпластичного процесу, що з часом призводить до поширеного спайкоутворення.

При нормальному перебізі репаративної регенерації очеревини плазміноген під дією активатора плазміногена (АП) перетворюється в плазмін і розчиняє фібринозні спайки між органами черевної порожнини в ранні строки після операції [4, 5, 9]. Таким чином, фібринолітична активність тканинного плазміну залежить від активності активатора плазміногена, який знаходиться в тканинах мезотелію, стінках підмезотеліальних судин і вивільняється при травмі або під дією інших факторів [1, 7, 8, 18]. Зв'язок між гальмуванням активності АП та підвищеною частотою утворення післяопераційних спайок було продемонстровано на багатьох експериментальних моделях [4,

5, 11, 12, 13, 14]. Метою нашого дослідження було довести взаємозв'язок між фактором ішемії тканини очеревини як наслідку збільшеного судинного тонусу симпатичної вегетативної ланки нервової регуляції, активністю активатора плазміногена та частотою і вираженням післяопераційних спайок.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено (120 експериментів) на 60 статевозрілих білих щурах масою тіла 200-250 г (2 групи по 30 тварин у кожній). Усім тваринам проводили моделювання спайкового процесу в черевній порожнині. Знеболювання – загальне, шляхом внутрішньом'язового введення гексеналу з розрахунку 100 мг/кг маси тіла. Після розкриття черевної порожнини середнім доступом висікали клапот парієтальної очеревини (ПО) розміром 1x2 см і зашивали передню черевну стінку проленом безперервними швами (в першій та другій групах). Другій групі тварин після зашивання лапаротомної рани вводили розчин прозерину з розрахунку 0,01 мл/100 г маси тіла тричі на день, починаючи з другої доби, для потенціювання дії медіаторів парасимпатичних рецепторів. Першій групі після проведення череворозтину додаткових впливів не здійснювали.

При висіченні ПО брали множинні зразки для біопсії з метою визначення активності АП нормальної серози ПО. На 1-у, 3-у, 5-у та 21-у

© М.І. Покидько – к.м.н., 2001.

добу після операції евтаназували по 3 тварини з кожної групи та проводили макроскопічне вивчення черевної порожнини. На різних ділянках ПО та вісцеральної очеревини (ВО) в місцях спайкового процесу брали біоптати для визначення активності АП. Розрахунок спайок у черевній порожнині проводили на 3-у, 5-у та 21-у добу після втручання за методикою [8], враховуючи їх частоту, розповсюдженість, щільність, і виводили сумарне значення за бальною системою. Активність АП визначали гістохімічно аутографічним методом Тодда в модифікації Л.В. Лютової [2]. Статистичну обробку цифрових даних проводили з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У першій групі тварин на ранніх строках операції для ділянки операційної рани були характерні значний набряк, пастозність та ціаноз. Ділянки нашарувань мали синюшно-багрове забарвлення і дрібні крововиливи. У деяких випадках відбувався різко виражений запальний процес із вогнищами гнійного запалення. Слід відзначити, що через 1 добу в більшості випадків ділянки петель кишечника та сальника були щільно приєднані фібринозними спайками до ділянки резектованої очеревини. У перші 3 дні петлі кишечника та сальника розділялись легко. На 5-у добу після операції відзначено зменшення кількості та розповсюдження зрощених ділянок тонкої кишки й сальника. При цьому роз'єднання спаєних ділянок від поверхні було утрудненим. На 21-й день після операції спайковий процес був представлений в основному шнуроподібними щільними зрощеннями, й у двох випадках петля кишечника та сальника разом із ділянкою рани передньої черевної стінки складала єдиний конгломерат.

У 2-й групі через добу після операції операційна рана була покрита тоненькою плівкою фібрину. Незначними були набряк і

ціаноз тканин як показник ішемії. У деяких місцях до ПО передньої черевної стінки живота були слабо припаяні петлі тонкої кишки і сальника. Проте протяжність і вираження цих фібринозних зрощень були значно меншими, ніж у попередній групі. Ці спайки легко розділялись. Лише в деяких ділянках були дрібні крововиливи та незначний набряк. На 5-у добу плівкоподібні зрощення визначались у вигляді окремих тонких фрагментів у черевній порожнині. Спайки утворювались в основному в ділянці 2-3 швів лапаротомної рани.

Результати оцінки спайкового процесу. В першій групі, де моделювання спайкового процесу йшло традиційним травматичним пошкодженням ПО з відновленням її цілісності найбільш хімічно інтактним із сучасних шовних матеріалів – проленом, утворення спайок відмічено у 29 (96,6 %) випадках. У другій групі, при такому ж моделюванні спайкового процесу із введенням розчину прозерину для стимуляції парасимпатичного тонусу і зняття ішемічного та паретичного факторів утворення зрощень, спайковий процес спостерігався у 23,3 % випадків, що достовірно відрізняється від першої групи ($p < 0,001$). Середні значення щільності післяопераційних спайок наведено в таблиці 1. Як видно з цих даних, в першій групі сума балів склала $8,9 \pm 0,7$, в другій – $2,6 \pm 0,4$. Відмінність даних показників була достовірною ($p < 0,001$).

Результати дослідження активності активатора плазміногена ПО. Фоновий рівень активності АП нормальної ПО, встановлений до операції, знаходився в межах $(210,9 \pm 36,5)$ мм². Результати зміни активності АП ПО після операції із застосуванням прозерину і без його використання наведено в таблиці 2. Як видно з таблиці, в першій групі відзначено різке зменшення активності АП на 1-у ($(29,2 \pm 8,6)$ мм²) і 3-ю добу ($(19,5 \pm 6,3)$ мм²) після оперативного втручання, на 5-й день вона мала

Таблиця 1 – Частота утворення, розповсюдження, тип та щільність післяопераційних спайок у щурів залежно від моделі спайкового процесу

Групи	Частота та характер спайкового процесу				
	частота (кількість випадків, %)	розповсюдження	тип	щільність	сума балів
1	29 (96,6)	$3,2 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2$	$8,9 \pm 0,7$
2	7 (23,3)	$1,2 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$0,8 \pm 1,2$	$2,6 \pm 0,4$

Таблиця 2 – Післяопераційна динаміка змін активності тканинного активатора плазміногена ПО залежно від моделі спайкового процесу

Групи	Відсоток лізису за 12 год, мм ²		
	1-а доба	3-а доба	5-а доба
1	$29,2 \pm 8,6$	$19,5 \pm 6,3$	$89,4 \pm 23,4$
2	$185,3 \pm 22,4$	$190,7 \pm 23,3$	$219,6 \pm 38,6$

тенденцію до зростання ((89,4+23,4) мм²), проте була достовірно меншою від фонового значення та відповідного значення у другій групі (p<0,05).

У другій групі незначне зниження активності АП відзначено тільки на 1-у добу ((185,3+22,4) мм²) після операції (p>0,05). На 3-й день вона була вже в межах фонового значення, а на 5-у добу дещо перевищувала його ((219,6+38,6) мм²). Через високу варіабельність показників активності АП різниці між фоновим показником і показниками 2-ї групи були недостовірними (p>0,05).

Аналіз отриманих даних показав, що при звичайному перебізі запальної реакції в ділянці ПО виникає виражений запальний процес, який супроводжується утворенням зрощень уже в перші години та дні після альтерації і продовжується перетворенням зрощень у щільні спайки. При цьому відзначається картина стійкої ішемії тканин ПО в місці травмування. У подальшому репаративна регенерація продовжується розростанням грубих, щільних та множинних спайок, порівняно з групою тварин, яким протягом післяопераційного періоду проводили стимулювання судинного тону та моторної

функції кишечника. Крім того, результати вивчення місцевої фібринолітичної активності тканини ПО показали, що в першій групі також достовірно знижувалась активність ферменту порівняно як із фоновими показниками, так і зі значеннями, отриманими при стимулювальному фармакологічному впливі на парасимпатичний відділ вегетативної регуляції судинного тону, що значно зменшує ішемічний фактор перебігу післяопераційної травми ПО. Так, у першій групі активність АП на 1-у добу знизилась у 7,2 раза, порівняно з фовою, на 3-ю – в 10,8 раза, на 5-у – в 2,3 раза.

ВИСНОВОК. Отримані дані свідчать про те, що в розвитку спайкового процесу в черевній порожнині вирішальну роль відіграє післяопераційний спазм судин ПО, зумовлений підвищеною функцією симпатичного відділу вегетативної нервової системи за типом шоквої реакції на альтеруючий фактор операційної травми. При цьому знижується активність АП, що, у свою чергу, компенсаторно призводить до організації репаративної регенерації в бік утворення щільних, грубих і множинних спайок для зменшення ішемії ділянок травмованої й ішемізованої очеревини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеев О.В. Микроциркуляторный гомеостаз // В кн.: Гомеостаз. – М.: Медицина, 1976. – С. 278-313.
2. Андреевко Г.В. Фибринолиз (биохимия, физиология, патофизиология). – М.: Медицина, 1979. – 237 с.
3. Воспаление: Руководство для врачей / Под ред. В.В. Серова, В.С. Паукова. – М.: Медицина, 1993. – 640 с.
4. Денисенко П.П. Теоретические и практические аспекты фармакологии холинергических процессов // Фармакол. и токсикол. – 1980. – № 7. – С. 523-530.
5. Итина Л.В. Рецепторная функция тонкой кишки. – Минск: Наука и техника, 1972. – 169 с.
6. Методы исследования фибринолитической системы крови / Под ред. Г.В. Андреевко. – М.: Медицина, 1981. – 421 с.
7. Buckman R.F., Sargent L., Gervin A.S. Inhibition of fibrin deposition postoperative adhesions // Clin. Res. – 1975. – **23**. – P. 15-21.
8. Buckman R.F., Wood M., Sargent L. et al. A unifying pathogenetic mechanism in the etiology of intraperitoneal adhesions // J. Surg. Res. – 1976. – **20**. – P. 1-6.
9. Cai H.F., Liu X.L., Qian B.C. Effect of Taozhi Zhipo granule on intestinal adhesion in rats and exploration of its therapeutic mechanism // Chung. Kuo. Chung. Hsi. I. Chieh. Ho. Tsa. Chih. – 1997. – № 17 (10). – P. 603-606.
10. Diamond M.P., De Cherney A.H. Laparoscopic salpingostomy for ectopic pregnancy // Microsurg. – 1987. – **8**. – P. 103-107.
11. Ellis H. The cause and prevention of postoperative intraperitoneal adhesions // Surg. Gynec. Obstet. – 1971. – **133**, № 3. – P. 497-511.
12. Esceland G. Regeneration of parietal peritoneum // Acta Pathol. et Microbiol. 1966. – № 3. – P. 355-392.
13. Hubbart T. B., Khan M.Z., Carag V.R. The pathology of peritoneal repair: its relation to the formation of adhesions // Ann. Surg. – 1967. – **165**, № 6. – P. 908-911.
14. Jonasson P., Bagge U., Wieslander A., Braide M. Heat-sterilized PD fluid blocks leukocyte adhesion and increases flow velocity in rat peritoneal venules // Perit. Dial. Int. – 1996. – **16**, Suppl 1. – P. S. 137-140.
15. Raftery A.T. Regeneration of parietal and visceral peritoneum: an electron microscopical study // J. Anat. – 1973. – **115**, № 3. – P. 375-392.

16. Ryan G.B., Grobery J.A., Marino G. Mesothelial injury and recovery // Am. J. Pathol. – 1973. – **71**, № 1. – P. 93-102.

17. Myllarniemi H. Healing and adhesion formation of peritoneal wounds // Acta Chir. Scand. – 1973. –

139, № 3. – P. 258-263.

18. Whawel S.A., Thompson Y.N. Cytocine induced release of plasminogen activator inhibitor-I by mesothelial cells // Eur. J. Surg. – 1995. – **161**. – P. 215-271.

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТКАНЕВОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА МЕЗОТЕЛИЯ БРЮШИНЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ СПАЙКОВОГО ПРОЦЕССА

М.И. Покидько

ВИННИЦКАЯ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

Резюме

Изучено активность активатора плазминогена париетальной брюшины при фармакологической стимуляции чревных симпатических нервов в эксперименте. Показано наличие высококоррелятивной связи между степенью торможения активности активатора плазминогена при повышенном тоне симпатической вегетативной регуляции и, как следствие, выраженной тканевой ишемии и увеличенной частотой образования и выраженностью послеоперационных спаек.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тканевая ишемия, активатор плазминогена, фибринолитическая активность, спайковый процесс, вегетативная регуляция сосудистого тонуса.

STUDY OF THE ACTIVITY OF PERITONEAL MESOTHELIAL PLASMINOGEN TISSUE ACTIVATOR AT COMMISURE PROCESS MODELLING

M.I. Pokydko

VINNITSIA STATE MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

The activity of parietal peritoneal plasminogen activator at pharmacological stimulation of peritoneal sympathetic nerves at experiment has been studied. It was shown that the grade of inhibition of plasminogen activator's activity at the hypertonus of sympathetic vegetative regulation and secondary tissue ischemia highly correlates with the rate and deepness of postoperative process in abdomen.

KEY WORDS: tissue ischemia, plasminogen activator, fibrinolytic activity, commisure process, vegetative regulation of vascular tonus.

Отримано 22.02.2001 р.

Адреса для листування: М.І. Покидько, кафедра факультетської хірургії, Вінницький державний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, 21018, Вінниця, Україна.

АКТИВНІСТЬ ЛІЗОСОМАЛЬНИХ ГІДРОЛАЗ ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБИ (ПЕПТИЧНІЙ ВИРАЗЦІ) ШЛУНКА І ДВНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ У ХВОРИХ РІЗНОГО ВІКУ

О.І. Федів

БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

У 148 хворих на виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки встановлено, що загострення захворювання супроводжується підвищенням активності β -галактозидази та появою активності катепсину D (у здорових осіб не виявлялась) у крові, що було найбільш вираженим у хворих похилого та старечого віку. Активність N-ацетил- β -D-гексозамінідази (особливо ізофракції В) та β -глюкуронідази при цьому зростала у хворих усіх вікових підгруп лише при наявності супровідного ураження гепатобіліарної системи. При ускладненні перебігу виразкової хвороби шлунково-кишковою кровотечею зазначені зміни були найсуттєвішими. Отримані дані дають можливість запропонувати використання показників активності катепсину D та β -галактозидази в крові для діагностики виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки, а N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (ізофракція В) та β -глюкуронідази – для виявлення супровідного ураження гепатобіліарної системи у хворих на виразкову хворобу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: виразкова хвороба, гепатобіліарна система, шлунково-кишкова кровотеча, лізосомальні гідролази, вік.

ВСТУП. Відомо, що у хворих на виразкову хворобу (ВХ) шлунка та дванадцятипалої кишки (ДПК) у період загострення спостерігається дестабілізація мембран лізосом у краях виразки і в навколишній ділянці слизової оболонки шлунка (СОШ), що супроводжується підвищенням активності лізосомальних ферментів (кислої РНК-ази, кислої фосфатази, β -галактозидази та катепсину D) у сироватці крові та СОШ [1, 4, 7, 8, 14]. Активність лізосомальних гідролаз у крові збільшується також у хворих із гострою шлунково-кишковою кровотечею виразкової етіології [12].

Експериментально підтверджено участь деяких лізосомальних гідролаз у виразкоутворенні, викликаному стресом [18], ульцерогенними лікарськими засобами (цинхофеном, ацетилсаліциловою кислотою, бутадіоном, індометацином, преднізолоном) [8], вітаміном А в комбінації з гістаміном [19].

Слід зазначити неоднорідність суджень щодо патогенетичного значення лізосомальних ферментів у виникненні пептичної виразки. Недостатньо вивченими залишаються також вікові особливості активності лізосомальних ферментів при ВХ шлунка та ДПК, зокрема при наявності супровідної патології гепато-

біліарної системи (ГБС) та шлунково-кишкової кровотечі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 148 хворих на ВХ шлунка і ДПК та 34 практично здорових особи. Серед них було 111 чоловіків та 37 жінок віком від 17 до 82 років. За статевим складом між групами хворих і практично здорових осіб суттєвої різниці не було. У 132 хворих виразка локалізувалась у цибуліні дванадцятипалої кишки, у 16 – в антральному відділі або тілі шлунка. У хворих похилого та старечого віку ВХ шлунка розцінювали як “пізню” або “з тривалим перебігом”. У 43 пацієнтів ВХ перебігала без супровідних захворювань. У 105 обстежених основне захворювання супроводжувалося супровідним ураженням ГБС (хронічний неспецифічний реактивний гепатит, хронічний холецистит, холангіт), у 44 пацієнтів перебіг захворювання ускладнився кровотечею.

Для проведення порівняльного аналізу отриманих даних хворих і практично здорових осіб поділили на групи залежно від віку, наявності супровідного ураження ГБС та шлунково-кишкової кровотечі (ШКК). Здорові особи склали 1-у (контрольну) групу. Хворі на ВХ ввійшли до 2-ї (ВХ без супровідної патології та ускладнень), 3-ї (ВХ із супровідним ура-

© О.І. Федів – к.м.н., 2001.

женням ГБС) та 4-ї (ВХ, ускладнена кровотокою) груп. За віком обстежених поділили на підгрупи: підгрупа А – особи юнацького віку, підгрупа Б – зрілого віку, підгрупа В – похилого та старечого віку.

Активність лізосомальних глікозидаз у плазмі крові визначали за допомогою спектрофлуориметра СДЛ-2 з використанням методу Л.С. Страчунського [11]. Субстратами для визначення активності ферментів були похідні 4-метилумбелліферону: для N-ацетил- β -D-гексозамінідази (КФ 3.2.1.30) – 4-метилумбелліферил-N-ацетил- β -D-глюкозамінід (“Sigma[®]”, США), для β -глюкуронідази (КФ 3.2.1.31) – 4-метилумбелліферил- β -D-глюкуронід (“Sigma[®]”, США), для β -галактозидази (КФ 3.2.1.23) – 4-метилумбелліферил- β -D-галактопіранозид (“Sigma[®]”, США). Активність ферментів виражали в наномолях субстрату, що розщепився за 1 годину інкубації в 1 мл плазми крові. Активність основного представника лізосомальних ендопептидаз – катепсину D (КФ 3.4.23.5) – в сироватці крові визначали за методом А.Дж. Баррет і М.Ф. Хіт [3], використовуючи як субстрат гемоглобін.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили на РС IBM 586 за програмою “STATISTICA 5.0” з використанням параметричних та непараметричних методів варіаційної статистики [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів дослідження (табл. 1) свідчить про те, що активність лізосомальних гідролаз у плазмі крові практично здорових була найвищою в осіб похилого та старечого віку (підгрупа В 1-ї групи). При цьому активність N-ацетил- β -D-гексозамінідази в підгрупі В перевищувала відповідні показники в підгрупі Б на 35,31 (загальна активність), 15,68 (ізофракція А) та 66,77 % (ізофракція В), у підгрупі А – на 86,38, 46,08 % та у 2,7 раза відповідно. У практично здорових осіб юнацького віку зазначені величини були в 1,4 (загальна активність), 1,3 (ізофракція А) та 1,6 раза (ізофракція В) меншими від таких у донорів зрілого віку. Аналогічними були вікові особливості активності β -глюкуронідази. Найбільш виражені відмінності виявлено при дослідженні активності β -галактозидази, яка в практично здорових осіб похилого і старечого віку перевищувала показники в підгрупах А і Б на 106 та 63,7 % відповідно.

Отримані дані свідчать про те, що активність лізосомальних ферментів у плазмі крові підвищується з віком. Однією з причин цього є, можливо, підсилення інтенсивності процесів

вільнорадикального окислення ліпідів та біополімерів у осіб похилого і старечого віку, яке, у свою чергу, призводить до зменшення стабільності лізосомальних мембран, їх руйнування та виходу ферментів у кров. Відомо, що β -галактозидазу можна застосовувати як маркер старіння клітин [17], що також підтверджується даними проведених нами досліджень.

При загостренні виразкової хвороби без супровідної патології та ускладнень (2-а група) у хворих підгруп Б та В спостерігались достовірне підвищення активності β -галактозидази, порівняно з віковою нормою (на 39,4 і 42,7 % відповідно, $p < 0,05$) та тенденція до збільшення активності термолабільної фракції А N-ацетил- β -D-гексозамінідази, частка якої в загальній активності даного ферменту переважає (як і за умов норми). Рівень β -глюкуронідази та термостабільної фракції В N-ацетил- β -D-гексозамінідази в зазначених вікових групах суттєво не відрізнявся від норми. У пацієнтів юнацького віку активність зазначених ферментів не змінювалась відносно показників у здорових осіб.

При наявності супровідного ураження ГБС (3-я група) та ШКК (4-а група) загальна активність N-ацетил- β -D-гексозамінідази у хворих на ВХ підгрупи А зростала стосовно такої в здорових осіб у 1,41 та 1,74 раза ($p < 0,05$), підгрупи Б – у 1,82 та 2,47 раза ($p < 0,05$), підгрупи В – у 1,52 та 1,74 раза відповідно ($p < 0,05$).

Порівняно з віковою нормою, достовірно також збільшувались показники β -глюкуронідази: в 1,3 та 1,5 раза (підгрупа А), в 1,5 та 1,8 раза (підгрупа Б), в 1,5 та 1,6 раза (підгрупа В) відповідно у хворих 3-ї та 4-ї груп (відмінності між даними величинами в цих групах були достовірними лише в осіб зрілого віку). Разом із тим, у всіх вікових підгрупах вони достовірно відрізнялись від таких при ВХ без супровідної патології та ускладнень ($p < 0,05$).

Активність β -галактозидази в 3-й групі хворих перевищувала показники практично здорових осіб на 39,5 (підгрупа А), 58,4 (підгрупа Б), 71,6 % (підгрупа В) відповідно. При наявності ШКК зміни цього показника, порівняно з віковою нормою, складала 64,2 % у хворих юнацького віку, 109,9 % – у пацієнтів зрілого віку, 101 % – у хворих похилого та старечого віку. При цьому активність β -галактозидази в обстежених 3-ї та 4-ї груп була достовірно вищою за таку в 2-й групі ($p < 0,05$). Достовірними є також відмінності між даними величинами в 3-й та 4-й групах ($p < 0,05$).

На відміну від здорових осіб, у яких активність катепсину D не виявлялась, при загостренні ВХ у хворих усіх вікових груп

Таблиця 1 – Активність N-ацетил- β -D-гексозамінідази, β -глюкуронідази, β -галактозидази, катепсину D у крові при виразковій хворобі шлунка та дванадцятипалої кишки у хворих різного віку (M \pm m)

Показники	Підгрупи	Групи обстежених			
		Практично здорові особи (1-а група) n _A =9 n _B =15 n _B =10	Хворі на ВХ (2-а група) n _A =10 n _B =21 n _B =12	Хворі на ВХ із супровідним ураженням ГБС (3-я група) n _A =9 n _B =1 n _B =21	Хворі на ВХ, ускладнену кровотечею (4-а група) n _A =8 n _B =21 n _B =15
N-ацетил- β -D-гексозамінідаза (загальна активність), нмоль/мл·год	А	223,47 \pm 20,41	259,49 \pm 24,15	314,37 \pm 32,52*	389,67 \pm 44,57**/**
	Б	307,82 \pm 27,34****	398,31 \pm 32,79****	560,49 \pm 32,57**/**	759,81 \pm 51,48**/**/ ****/****
	В	416,51 \pm 33,22****/****	506,32 \pm 41,61****	631,84 \pm 37,39**/**/ ****	726,65 \pm 56,73**/**/ ****
N-ацетил- β -D-гексозамінідаза (ізофракція А), нмоль/мл·год	А	150,09 \pm 19,24	180,48 \pm 21,82	219,39 \pm 27,68	264,27 \pm 36,46*
	Б	189,53 \pm 18,99	249,41 \pm 22,65	360,69 \pm 29,88**/**	442,88 \pm 35,62**/**
	В	219,25 \pm 18,11****	288,45 \pm 27,87****	309,42 \pm 18,79**/**/****	315,50 \pm 27,08**/**/****
N-ацетил- β -D-гексозамінідаза (ізофракція В), нмоль/мл·год	А	73,38 \pm 5,95	79,01 \pm 4,75	94,98 \pm 6,92*	125,40 \pm 14,52**/**
	Б	118,29 \pm 11,20****	148,90 \pm 10,96****	199,80 \pm 13,26**/**/ ****	316,92 \pm 20,19**/**/ ****/****
	В	197,27 \pm 20,05****/****	217,87 \pm 14,98****/ ****	322,42 \pm 21,08**/**/ ****/****	411,15 \pm 34,82**/**/ ****/****/****
β -глюкуронідаза, нмоль/мл·год	А	36,84 \pm 2,23	40,09 \pm 1,65	48,46 \pm 3,18**/**	53,85 \pm 3,28**/**
	Б	44,30 \pm 2,09****	48,85 \pm 3,64****	67,02 \pm 4,01**/**/****	81,52 \pm 5,34**/**/****/ ****
	В	57,99 \pm 4,13****/****	70,18 \pm 5,40****/ ****	87,31 \pm 4,13**/**/ ****/****	95,23 \pm 6,15**/**/****
β -галактозидаза, нмоль/мл·год	А	4,41 \pm 0,26	5,26 \pm 0,32	6,15 \pm 0,37*	7,24 \pm 0,46**/**
	Б	5,56 \pm 0,29****	7,75 \pm 0,69**/**/****	8,81 \pm 0,63**/**/****	11,67 \pm 0,52**/**/****/ ****
	В	9,10 \pm 0,65****/****	12,99 \pm 0,76****/****	15,62 \pm 0,68**/**/ ****/****	18,29 \pm 1,10**/**/****/ ****/****
Катепсин D, ум.од.	А	-	0,035 \pm 0,002	0,042 \pm 0,003	0,060 \pm 0,006**/**/****
	Б	-	0,072 \pm 0,004****	0,087 \pm 0,005**/**/****	0,118 \pm 0,007**/**/****/ ****
	В	-	0,093 \pm 0,005****/ ****	0,116 \pm 0,007**/**/****/ ****	0,147 \pm 0,007**/**/****/ ****/****

Примітка. * – відмінності достовірні (p<0,001-0,050) між показниками 1-ї та 2-ї, 1-ї та 3-ї, 1-ї та 4-ї груп; ** – відмінності достовірні (p<0,001-0,050) між показниками 2-ї та 3-ї, 2-ї та 4-ї груп; *** – відмінності достовірні (p<0,001-0,050) між показниками 3-ї та 4-ї груп; **** – відмінності достовірні (p<0,001-0,050) між показниками підгруп А і Б, А і В; ***** – відмінності достовірні (p<0,001-0,050) між показниками підгруп Б і В; підгрупа А – особи юнацького віку; підгрупа Б – особи зрілого віку; підгрупа В – особи похилого та старечого віку.

спостерігалась активність даного ферменту різного ступеня вираження. Найбільшою вона була у хворих на ВХ, ускладнену кровотечею, перевищуючи відповідні величини у 2-й та 3-й групах на 71,4 та 42,9 % (юнацький вік), 63,9 і 35,6 % (зрілий вік), 58,1 і 26,7 % (похилий та старечий вік).

Таким чином, загострення виразкової хвороби супроводжувалось підвищенням активності β -галактозидази та появою активності катепсину D в крові, особливо у хворих похилого та старечого віку. Це, ймовірно, зумовлено порушенням цілісності лізосомальних мембран внаслідок підсилення інтенсивності

процесів вільнорадикального окислення ліпідів при ВХ [5, 13]. Відсутність при цьому достовірних змін показників активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази та β-глюкуронідази, очевидно, пояснюється швидшою елімінацією даних ферментів із кров'яного русла [2]. При наявності супровідної патології ГБС активність останніх двох ферментів достовірно зростала. Відомо [16], що N-ацетил-β-D-гексозамінідаза є показником функціонування ретикулоендотеліальної системи печінки (зокрема, клітин Купфера). За даними [10, 15], при хронічному гепатиті також підвищується активність даного ферменту та β-глюкуронідази в крові.

Виявлене при перебізі ВХ, ускладненому ШКК, найбільш виражене збільшення активності лізосомальних гідролаз може спричинити помітні порушення з боку різних ланок гомеостазу при даній патології [12].

Однією з причин зазначених вище змін може бути також участь у патологічному процесі гладких клітин, індикатором дегрануляції яких є N-ацетил-β-D-глюкозамінідаза [20].

ВИСНОВКИ. 1. У практично здорових осіб похилого та старечого віку, порівняно з донорами зрілого та юнацького віку, спостеріга-

ється збільшення активності лізосомальних гідролаз (N-ацетил-β-D-глюкозамінідази, β-глюкуронідази, β-галактозидази).

2. При загостренні виразкової хвороби підвищується активність β-галактозидази та з'являється активність катепсину D у крові (у практично здорових осіб не виникала), що було найбільш вираженим у хворих похилого та старечого віку.

3. Активність N-ацетил-β-D-гексозамінідази (особливо термостабільної ізофракції В) та β-глюкуронідази при цьому зростала у хворих усіх вікових підгруп лише при наявності супровідного ураження гепатобіліарної системи. Найсуттєвіші зміни активності лізосомальних гідролаз у крові спостерігались у хворих на виразкову хворобу із супровідним ураженням гепатобіліарної системи та шлунково-кишковою кровотечею.

4. Отримані дані дають можливість запропонувати використання показників активності катепсину D та β-галактозидази в крові для діагностики виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, а N-ацетил-β-D-глюкозамінідази (термостабільна ізофракція В) та β-глюкуронідази – для виявлення супровідного ураження гепатобіліарної системи у хворих на ВХ.

ЛІТЕРАТУРА.

1. Амиров Н.Ш., Антонов Д.В. Агрессивная роль лизосомных ферментов при язвообразовании в желудке // Бюлл. эксперим. биол. – 1993. – **115**, № 1. – С. 37-38.
2. Бабаева Н.И., Липицкая И.Я., Творогова М.Г., Титов В.Н. Диагностическое значение исследования активности N-ацетил-β-D-гексозаминидазы в моче (обзор литературы) // Лаб. дело. – 1991. – № 1. – С. 9-16.
3. Баррет А.Дж., Хит М.Ф. Лизосомные ферменты // Лизосомы. Методы исследования / Под ред. Дж. Дингла. – М.: Мир, 1980. – С. 25-141.
4. Бияшева И.Р., Мальцев Г.Ю., Пустовойтов В.В., Лоранская Т.И. Исследование системы антиокислительной защиты и активности лизосомальных гидролаз в слизистой оболочке желудка при язвенной болезни // Вопр. мед. химии. – 1991. – № 3. – С. 58-60.
5. Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Эльчинова С.А., Варшавский Б.Я. Перекисное окисление липидов у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки // Клини. лаб. диагн. – 1998. – № 6. – С. 10-14.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
7. Кольцов П.А., Казаков О.В., Пантюхина Н.П., Зеликович С.А. Активность катепсина D в сыворотке

8. крови при некоторых заболеваниях желудка // Клини. мед. – 1982. – **60**, № 12. – С. 73-75.
9. Осипенко М.Ф. Активность лизосомальных ферментов при хроническом гастрите и язвенной болезни: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 1991. – 19 с.
10. Остапчук Н.В. Участие лизосомальных ферментов в лекарственном язве желудка // Бюлл. эксперим. биол. – 1991. – **111**, № 4. – С. 384-386.
11. Скобелева Т.В. Метаболизм основного вещества соединительной ткани на различных стадиях развития экспериментального цирроза печени // Вопр. мед. химии. – 1995. – № 5. – С. 17-20.
12. Страчунский Л.С. Определение активности лизосомальных гидролаз в плазме крови // Лаб. дело. – 1980. – № 6. – С. 329-332.
13. Хараберюш В.А., Кондратенко П.Г., Мареева Т.Е. и др. Перекисное окисление липидов и активность лизосомальных ферментов у больных с острым желудочно-кишечным кровотечением язвенной этиологии // Клини. хирургия. – 1990. – № 4. – С. 14-16.
14. Эседов Э.М., Мамаев С.Н. Характеристика перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки у больных язвенной болезнью // Тер. архив. – 1998. – № 2. – С. 32-35.

14. Dlugosz A., Chosia M. Immunocytochemical evaluation of gastric mucosal cathepsin D in peptic ulcer // Pol. J. Pathol. – 1998. – **49**, № 2. – P. 77-82.
15. Elsafi M.E., Hultberg B., Isaksson A. Lysosomes and human liver disease: a biochemical and immunohistochemical study of beta-hexosaminidase // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 1994. – **32**, № 9. – P. 669-673.
16. Jiang W.G., Puntis M.C. Monocyte secretion of beta-hexosaminidase in patients with obstructive jaundice // HPB Surg. – 1993. – **7**, № 1. – P. 15-23.
17. Severino J., Allen R.G., Balin S. et al. Is beta-galactosidase staining a marker of senescence in vitro and in vivo? // Exp. Cell. Res. – 2000. – **257**, № 1. – P. 162-171.
18. Watanabe K Changes in the activities of lysosomal enzyme (glycosidase) in experimental acute gastric mucosal lesion // Nippon Geka Gakkai Zasshi. – 1986. – **87**, № 4. – P. 395-402.
19. Watanabe S., Ozeki T., Oshiba S. Stomach ulcer and lysosomal cathepsin // Tohoku J. Exp. Med. – 1981. – **134**, № 1. – P. 39-44.
20. Yamamoto J., Watanabe S., Hirose M. et al. Role of mast cells as a trigger of inflammation in Helicobacter pylori infection // J. Physiol. Pharmacol. – 1999. – **50**, № 1. – P. 17-23.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ГИДРОЛАЗ ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ (ПЕПТИЧЕСКОЙ ЯЗВЕ) ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА

А.И. Федив

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

У 148 больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки установлено, что обострение заболевания сопровождается повышением активности β -галактозидазы и появлением активности катепсина D (у здоровых лиц не выявлено) в крови, что было наиболее выраженным у больных пожилого и старческого возраста. Активность N-ацетил- β -D-гексозаминидазы (особенно изофракции B) и β -глюкуронидазы при этом возрастала у больных всех возрастных подгрупп только при наличии сопутствующего поражения гепатобилиарной системы. При осложнении течения язвенной болезни желудочно-кишечным кровотечением отмеченные изменения были более существенными. Полученные данные дают возможность предложить применение показателей активности катепсина D и β -галактозидазы в крови для диагностики язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, а N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы (изофракция B) и β -глюкуронидазы – для выявления сопутствующего поражения гепатобилиарной системы у больных язвенной болезнью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: язвенная болезнь, гепатобилиарная система, желудочно-кишечное кровотечение, лизосомальные гидролазы, возраст.

THE ACTIVITY OF LYSOSOMAL HYDROLASES IN PEPTIC ULCER OF THE STOMACH AND DUODENUM IN PATIENTS OF DIFFERENT AGE

O.I. Fediv

BUCOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

It was established that the exacerbation of the disease in 148 patients with peptic ulcer of the stomach and duodenum were accompanied by elevation of the β -galactosidase activity and the appearance of the cathepsin D activity (no signs in healthy persons) in the blood, the latter being especially marked in patients of elderly and senile age. The activity of N-acetyl- β -D-hexosaminidase (especially B isoformations) and β -glucuronidase elevated in patients of all the age groups in the presence of a concomitant affection of the hepatobiliary system. The above mentioned changes were most marked in case of complicated course of peptic ulcer. The obtained data make it possible to propose the use of the indices of cathepsin D and β -galactosidase in the blood in order to diagnose peptic ulcer of the stomach and duodenum, while N-acetyl- β -D-glucosaminidase (B isoformations) and β -glucuronidase for the purpose of detecting a concomitant lesion of the hepatobiliary system in patients with peptic ulcer.

KEY WORDS: peptic ulcer, hepatobiliary system, gastrointestinal bleeding, lysosomal hydrolases, age.

Отримано 20.11.2000 р.

Адреса для листування: О.І. Федів, вул. Південно-Кільцева, 5Б/123, 58013, Чернівці. Україна.

РОЛЬ ЦИНКУ В ЕтіОПАТОГЕНЕЗІ ЗАТРИМКИ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ І РОСТУ ПЛОДА

М.А. Лизин, А.О. Клименко, І.І. Гудивок, С.С. Стоцький, Л.В. Пахаренко
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

У результаті проведеного клініко-біохімічного дослідження у вагітних жінок із затримкою внутрішньоутробного розвитку і росту плода (ЗВРРП) виявлено значне зниження концентрації в крові, тканині матки та плаценти біометалу цинку. Зроблено висновок, що зменшення концентрації цинку в крові, тканині матки і плаценти вагітних жінок лежить в основі одного з факторів етіопатогенезу затримки росту м'язових волокон матки (ЗРМВМ) під час гестації, що є однією з найважливіших причин розвитку хронічної внутрішньоутробної гіпоксії і гіпотрофії плода.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вагітність, цинк, затримка внутрішньоутробного розвитку і росту плода.

ВСТУП. Незважаючи на досягнуті великі успіхи у вивченні біологічної ролі мікроелементів, деякі питання, пов'язані з їх обміном в організмі жінки як при фізіологічному перебізі гестації, так і при акушерській патології до сьогодні ще недостатньо вивчено.

Вагітність є фізіологічним процесом, при якому в організмі відбуваються ряд змін, пов'язаних із забезпеченням поживними речовинами, необхідними для розвитку і росту плода. Відомо, що мікроелементи (МЕ) мають важливе значення у перебізі вагітності й пологів. Порушення обміну МЕ суттєво впливають на розвиток і ріст матки, плода, плаценти та зумовлюють виникнення акушерської й екстрагенітальної патологій [3, 5, 6, 7]. Разом із тим, залишається недостатньо вивченим питання про роль МЕ в патогенезі ЗРМВМ. Встановлено, що цинк бере активну участь у поділі клітин, обміні нуклеїнових кислот, білковому обміні, скоротливій функції м'язових волокон і процесі синтезу статевих гормонів, які тісно пов'язані з функціональним станом залоз внутрішньої секреції і рівнем тканинного дихання [2, 3, 4, 8].

Метою нашої роботи було вивчення вмісту цинку в крові вагітних жінок, у тканині матки і плаценти при фізіологічній вагітності й ЗВРРП.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено клініко-біохімічне дослідження у 25 невагітних жінок, 32 вагітних жінок із фізіологічним перебігом вагітності та 92 жінок із ЗВРРП. Кров

© М.А. Лизин – к.м.н., доц., А.О. Клименко – д.м.н., проф., І.І. Гудивок – д.м.н., проф., С.С. Стоцький, Л.В. Пахаренко, 2001.

для експерименту брали з вени ліктьового згину натще.

Для визначення концентрації цинку використовували атомно-абсорбційну спектрофотометрію [10]. Вміст цинку визначали після попереднього озолування цільної крові, м'яза матки і плаценти. Застосовували атомно-абсорбційний спектрофотометр "С-115 ПК". Атомізацію робочих розчинів проводили в повітряно-ацетиленовому полум'ї.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Враховуючи активний вплив цинку на стан м'язової тканини в організмі вагітної жінки, ми провели кількісний аналіз вмісту цього життєво важливого біометалу в крові невагітних і вагітних жінок, а також у тканині матки і плаценти, при фізіологічному перебізі вагітності й ЗВРРП.

Для організму здорової вагітної жінки характерний певний ступінь насиченості тканин і органів МЕ. Цинк як один із найважливіших мікроелементів належать до біометалів, які є обов'язковими компонентами клітин організму. Зниження вмісту цинку спостерігається в крові жінок, які народили дітей із гіпотрофією [5].

Встановлено, що в нормі у невагітних жінок концентрація цинку в крові складає в середньому $(6,42 \pm 0,22)$ мг/л. При ЗВРРП, залежно від ступеня вираження патологічного процесу, цей рівень істотно змінюється. Так, концентрація цинку в крові при ЗВРРП становить $(4,26 \pm 0,10)$ мг/л, тоді як при фізіологічній вагітності цей показний дорівнює $(8,94 \pm 0,49)$ мг/л ($p < 0,001$), тобто він менший на 50 % від норми. Порівняно з концентрацією цинку в крові у невагітних жінок, його концент-

рація під час гестації збільшується, але при даній патології цей показник значно менший. Між концентрацією цинку в крові й ступенем вираження ЗВРРП існує зворотний кореляційний зв'язок. Відомо, що частина цинку в крові знаходиться в еритроцитах у зв'язаному стані та йде виключно на утворення й активацію карбоангідрази. У крові він, як правило, зв'язаний з білками, від яких легко від'єднується, і концентрація його може значно змінюватись. Тому не завжди можна достовірно встановити залежність між кількістю цинку в крові й станом його обміну.

Це положення підтверджують дані літератури про стабільний стан цинкофікуючої здатності сироваткових білків як при вагітності, що фізіологічно перебігає, так і при ряді захворювань [1, 7]. Однак низький рівень цинку при ЗВРРП, на нашу думку, свідчить про зрив компенсаторних реакцій, які спрямовані на обмеження метаболічних порушень. Останні виникають при вагітності, що підтримують гомеостаз шляхом активації ряду ферментних систем. Цинк-дефіцитний стан може розвиватись в організмі вагітної жінки з акушерською й екстрагенітальною патологіями. Головну роль серед них відіграють причини ендогенного походження, оскільки за умов фізіологічного перебігу гестації потреба організму матері й плода в МЕ різко зростає. Тому закономірно виникає необхідність вивчити концентрацію цинку в тканинах матки і плаценти.

Кількісне визначення вмісту цинку в плаценті показало, що при фізіологічному перебізі гестації концентрація його в середньому становила $(12,54 \pm 0,56)$ мг/кг. При ЗВРРП вона знижувалась, залежала від ступеня вираження цієї патології і в середньому дорівнювала $(5,12 \pm 0,12)$ мг/кг сирової речовини. Відомо, що в генезі ЗВРРП важливу роль відводять порушенню маткового кровотоку. Це призводить до порушення доставки поживних речовин, у тому числі й МЕ, до плода. У зв'язку з тим, що плацента має вибірково здатність депонувати МЕ, ми схильні підтримувати думку ряду авторів [5], що виявлене нами зниження концентрації цинку в тканині плаценти зумовлене частковим переходом цього біометалу до тканини плода для підтримки його гомеостазу і має адаптаційно-компенсаторний характер. Розвиток плода і маса новонародженої дитини зумовлені функціональним станом плаценти. Плацента малої величини призводить до порушення розвитку і росту плода. Є зовнішні й внутрішні причини відставання плода в масі. Зниження вмісту цинку

вказує на зменшення плода внаслідок зниження білкового синтезу в організмі. Одним із головних симптомів цинкової недостатності є відставання в рості й розвитку плода. Наші дослідження підтверджують цю думку.

Аналіз отриманих даних показав, що в тканині матки концентрація цинку у жінок із фізіологічним перебігом складає $(18,95 \pm 0,75)$ мг/кг, тоді як при ЗВРРП цей показник дорівнює $(10,45 \pm 0,30)$ мг/кг ($p < 0,001$) і на 55 % менший від норми, що свідчить про значний дефіцит цинку в тканині матки. За даними літератури, концентрація цинку в тканині матки залежить від рівня прогестерону в організмі вагітної жінки [3]. Фізіологічна дія прогестерону полягає в зменшенні реактивності м'яза матки під час гестації. При цьому треба відмітити, що виділення прогестерону під час гестації постійно збільшується і тільки перед пологами його кількість значно знижується. Зіставлення даних концентрації цинку в тканині матки і динаміка синтезу прогестерону в організмі вагітної жінки певною мірою можуть пояснити феномен зниженої концентрації цинку при ЗВРРП. Як відомо, в основі акушерської й екстрагенітальної патологій лежать порушення гормонального фону. ЗВРРП не є винятком, і порушення синтезу прогестерону має певне значення в генезі даної патології.

Як свідчать дані літератури про механізм впливу цинку на клітини міометрія, між концентрацією цинку і синтезом білків, рівнями естрогенів і прогестерону існує прямо пропорційна залежність. На нашу думку, низький вміст цинку в тканині матки при ЗВРРП, з одного боку, треба розглядати як негативний прогностичний момент, а з іншого – як опосередковане свідчення порушення гормонального стану. На фоні пониженої концентрації цинку, особливо при важкому ступені ЗВРРП, спостерігаються пригнічення і затримка розвитку та росту м'язових волокон матки поряд із розладами інших видів обміну, що впливає, в кінцевому результаті, на перебіг гестації і закінчення пологів. Усе це вимагає належної корекції.

ВИСНОВОК. Затримка внутрішньоутробного розвитку і росту плода виникає на фоні глибокого дефіциту цинку в крові, тканині матки і плаценти у вагітних жінок, що відіграє велику роль в етіопатогенезі затримки росту м'язових волокон матки і призводить до розвитку хронічної внутрішньоутробної гіпоксії та гіпотрофії плода.

ЛІТЕРАТУРА

1. Артамонов В.С., Каракаш С.І., Гнатко О.П. Роль цинку в етіопатогенезі перенесеної вагітності (огляд літератури) // ПАГ. – 1987. – № 5. – С. 45-48.
2. Бабенко Г.О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях. – К.: Здоров'я, 1968. – С. 99-111.
3. Гребенчук Л.В., Залізник В.А., Слинко О.М. Дослідження вмісту цинку і карбоангідази у жінок при строкових і передчасних пологах // ПАГ. – 1978. – № 2. – С. 46-47.
4. Караш С.І. Вплив солей цинку на показники клітинного і гуморального імунітету при перенесеній вагітності // ПАГ. – 1985. – № 4. – С. 50-52.
5. Князев Ю.А., Карлинский М.В. Роль цинка при нормальной и патологической беременности // Акуш. и гинекол. – 1991. – № 10. – С. 6-9.
6. Коломыйцева А.Г., Габович Р.Д. Микроэлементы в медицине. – М.: Медицина, 1970. – 287 с.
7. Микроэлементы человека: этиология, классификация, органопатия / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, И.А. Риш, Л.С. Строчкова. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
8. Міщенко В.П. Вміст мікроелементів у крові жінок за триместрами вагітності // ПАГ. – 1997. – № 5. – С. 68-69.
10. Makino T., Takahara K. Direct determination of plasma copper and zinc in infants by atomic absorption with discrete nebulization // Clin. Chem. – 1981. – 27, № 8. – P. 1445-1447.

РОЛЬ ЦИНКА В ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ ЗАДЕРЖКИ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ И РОСТА ПЛОДА

М.А. Лызын, А.А. Клименко, И.И. Гудывок, С.С. Стоцкий, Л.В. Пахаренко
ИВАНО-ФРАНКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

В результате проведенного клинико-химического исследования у беременных женщин с задержкой внутриутробного развития и роста плода (ЗВРПП) обнаружено значительное снижение концентрации в крови, ткани матки и плаценты биометалла цинка. Сделан вывод, что уменьшение концентрации цинка в крови, ткани матки и плаценты беременных женщин лежит в основе одного из факторов этиопатогенеза задержки роста мышечных волокон матки (ЗРМВМ) во время гестации, что является одной из наиболее важных причин развития хронической внутриутробной гипоксии и гипотрофии плода.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: беременность, цинк, задержка внутриутробного развития и роста плода.

ROLE OF ZINC IN AETHIOPATHOGENESIS OF INTRAUTERINE FETAL DEVELOPMENT AND GROWTH DELAY

M.A. Lyzyn, A.O. Klymenko, I.I. Hudyvok, S.S. Stotsky, L.V. Pakharenko
IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

Following the carried out clinico-biochemical research we revealed considerable decrease of concentration of biometall as zinc. Analysing literature data and their comparison with the results of our research we consider that the decrease of concentration of this microelement in blood, uterine tissue and placenta of pregnant women is the basis of aethiopathogenesis of uterine muscular fibra growth delay during gestation which is one of the main reasons of development of fetal chronic intrauterine hypoxia and hypotrophy.

KEY WORDS: pregnancy, zinc, intrauterine fetal development and growth delay.

Отримано 27.10.2000 р.

Адреса для листування: М.А. Лизин, вул. Самостійна, 27, 77423, с. Угринів, Тисменицький р-н, Івано-Франківська обл.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НА ПРОЦЕСИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ НОВОГО ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ПІФЛАМІНУ

О.О. Герасимова

НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Проведено експериментальне дослідження впливу препарату з трави гороху посівного – піфламіну – на процеси вільнорадикального окислення в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту. Встановлено виражену антиоксидну активність препарату в дозі 150 мг/кг. Піфламін, завдяки комплексу діючих речовин гороху посівного, на рівні гепатопротектора силібору інгібує процеси ліпопероксидації в печінці щурів та підвищує активність антиоксидної системи дослідних тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: піфламін, біофлавоноїди, антиоксидні властивості, перекисне окислення ліпідів, гепатопротекторні препарати, токсичний гепатит.

ВСТУП. Серед численних патогенетичних механізмів розвитку захворювань печінки провідну роль у даний час вчені відводять активації вільнорадикального окислення мембранних ліпідів. Ця концепція є обґрунтуванням актуальності використання в гепатології лікарських засобів з антиоксидним механізмом дії. Практичний інтерес у науковців викликають фітопрепарати, до складу яких входять представники групи поліфенольних сполук: флавоноїди й оксикоричні кислоти [2,7,10]. Згідно з даними літератури, ці біологічно активні речовини (БАР) здатні нормалізувати проникність і функції мембран гепатоцитів, а також зменшувати токсичну дію продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) на печінку. Участь фенольних сполук в окисно-відновних реакціях (ОВР) зумовлена їх здатністю до комплексоутворення з іонами важких металів, зокрема іонами Fe, які ініціюють ПОЛ, та наявністю в їх складі рухливого атома водню, який інактивує вільні радикали, утворюючи малоактивні радикали антиоксидантів, що не спроможні продовжувати ланцюгові реакції вільнорадикальних процесів [4].

Враховуючи вищезазначене, перспективною лікарською сировиною для створення нового гепатозахисного засобу можна вважати траву найбільш розповсюдженої сільськогосподарської рослини – гороху посівного, що містить комплекс діючих речовин: флавоноїдні

сполуки (лютеолін, кверцетин, кемпферол), оксикоричні кислоти (ферулову і п-гідрокси-коричну), цукри, амінокислоти та інші БАР. Учені НФАУ з трави гороху посівного одержали субстанцію і назвали її піфламін, на основі якої було створено таблетки, що містять по 125 мг діючої речовини.

У ЦНДЛ НФАУ встановлено виражені антиоксидні властивості піфламіну *in vitro* й *in vivo*, а також гепатопротекторну активність на моделі гострого гепатиту, викликаного парацетамолом, та хронічного алкогольного гепатиту. Для поглиблення уявлень про гепатозахисну дію препарату проведено вивчення впливу піфламіну на процеси ПОЛ в умовах гострого токсичного гепатиту в щурів, викликаного тетрахлорметаном.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих щурах обох статей масою тіла 160-190 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Ураження печінки викликали одноразовим внутрішньошлунковим введенням у дозі 0,7 мл на 100 г маси тварини 50 % масляного розчину тетрахлорметану, прооксидний ефект якого визначає патогенез ушкодження печінки [1, 5]. В експерименті використовували 5 серій щурів: 1 – інтактні тварини; 2 – група щурів контрольної патології, які одержували тетрахлорметан; 3 і 4 – тварини, які на фоні введення гепатотоксину отримували таблетки піфламіну в дозах 100 і

© О.О. Герасимова, 2001.

150 мг/кг відповідно; 5 – група щурів, яким поряд із введенням тетрахлорметану проводили лікування препаратом порівняння силібором у дозі 25 мг/кг [6]. Силібор – вітчизняний флавоноїдний препарат, який широко застосовують у комплексній терапії захворювань печінки як антиоксидант-гепатопротектор. Досліджувані препарати вводили за 1 годину до введення тетрахлорметану (профілактичне введення) і через 2 години після введення гепатотоксину (лікувальний режим). Після закінчення терміну моделювання патології тварин декапітували, з метою проведення подальших біохімічних досліджень здійснювали забір крові й тканини печінки. Про розвиток патологічного ПОЛ свідчило накопичення в сироватці крові та гомогенаті печінки проміжних (дієнові кон'югати – ДК) [11] і кінцевих (малоновий діальдегід – МДА) продуктів ліпопероксидації [11]. Стан антиоксидантної системи організму (АОС) оцінювали за рівнем біоантиоксиданта – відновленого глутатіону (GSH) і антиперекисних ферментів – каталази [9] і супероксиддисмутази (СОД) [3]. З метою оцінки стану загальнотрофічних процесів у печінці визначали ваговий коефіцієнт печінки (ВКП) експериментальних тварин. Отримані дані обробляли статистичним методом, використовуючи критерій Стьюдента (t) [8].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів експерименту, наведених у таблиці 1, показав, що в групі тварин контрольної патології гостре отруєння печінки тетрахлорметаном характеризується значними змінами в тканині печінки. На тлі 100 % виживання щурів тварин спостерігалася достовірна зміна всіх досліджуваних показників, властива даній патології. Токсична дія тетрахлорметану проявилася активацією процесів ПОЛ із тенденцією до накопичення в тканині печінки МДА та різким підвищенням рівня ДК (у 4,6 раза, порівняно з інтактним контролем). Внаслідок набряку печінкової тканини, що збільшився з розвитком патології, у щурів групи контрольної патології значно підвищився ВКП, що свідчить про порушення гемодинаміки. Патологічний процес в печінці супроводжується змінами захисних механізмів антиоксидантної системи організму експериментальних тварин, які перешкоджають ініціації вільнорадикального ПОЛ: достовірним виснаженням системи глутатіону та підвищенням активності СОД і каталази в гомогенаті печінки у 2 рази, порівняно з інтактним контролем.

Менш показовими були зміни в сироватці крові контрольних тварин, що підкреслює

інтенсивність розвитку патологічного процесу в самій печінці. Збільшення концентрації МДА хоч і мало виражений характер, але не було достовірним. Привертає увагу лише достовірне підвищення (в 1,5 раза) рівня СОД, яке корелює зі зміною активності ферменту в гомогенаті печінки.

Введення тваринам на тлі патології силібору в дозі 25 мг/кг і піфламіну в дозах 100 і 150 мг/кг сприяло відновленню функціонально-біохімічного стану печінки. Препарати позитивно вплинули на загальнотрофічні процеси в органі, що підтверджується тенденцією до зниження ВКП, поліпшили показники АОС, а саме: в гомогенаті печінки відновився майже до норми вміст СОД, а рівень глутатіону став навіть вищим, ніж у інтактних тварин. Такий позитивний вплив препаратів на стан АОС можна пояснити протіокислювальними властивостями піфламіну і силібору, зумовленими здатністю легко віддавати електрони, що сприяє відновленню порушених показників АОС [10].

Ступінь впливу піфламіну і силібору на інший захисний фермент АОС – каталазу – був неоднозначним. На відміну від СОД, лікування експериментальних тварин піфламіном у дозі 150 мг/кг і силібором не призвело до достовірно значущих змін каталазної активності, однак піфламін у дозі 100 мг/кг достовірно знижував цей показник (у 1,3 раза), порівняно з групою контрольної патології.

Необхідно відзначити інгібуєчий вплив піфламіну в дозі 150 мг/кг на процеси ПОЛ: достовірно знижувався в тканині печінки рівень МДА в 1,5 раза, порівняно з контрольною патологією, та в 1,7 раза – з референс-препаратом, тоді як під дією піфламіну в дозі 100 мг/кг, як і під впливом силібору, статистично достовірних змін цього показника не відбувалося, що, ймовірно, зумовлено їх менш вираженою спроможністю обривати вільнорадикальні реакції. Під впливом досліджуваних препаратів спостерігалася також тенденція до зменшення накопичення ДК (зміни показника були достовірними тільки для препарату порівняння).

Порівняно із позитивними змінами показників у тканині печінки, у сироватці крові спостерігалась менша активність препаратів. Тенденція до інгібування процесів ліпопероксидації зберігалася, що чітко виявилось в зниженні силібором і піфламіном у дозі 150 мг/кг активності СОД (причому дія силібору на цей показник була достовірно більш виразною, ніж дія піфламіну в дозі 100 мг/кг), однак динаміка вмісту продуктів ПОЛ – МДА і ДК – мала недостовірний характер.

Таблиця 1 – Вивчення впливу піфламіну на функціонально-біохімічні показники печінки у щурів в умовах гострого токсичного гепатиту, викликаного CCl_4 ($M \pm m$; $n=7$)

Показник	Умови досліджу				
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Силібор, 25 мг/кг	Піфламін, 100 мг/кг	Піфламін, 150 мг/кг
Загибель тварин	0	0	0	0	0
ВКП	3,43±0,13	5,66±0,33*	4,70±0,33*	5,30±0,43*	4,90±0,42*
Гомогенат печінки					
МДА, мкмоль/г	63,06±2,97	86,08±5,89*	97,80±5,88*	90,11±8,80*	56,78±3,21**/**
ДК, мкмоль/г	0,74±0,18	3,41±1,03*	0,97±0,23**	1,30±0,60	1,72±0,55
GSH, ум. од.	30,48±4,19	19,23±2,93*	52,35±8,61**/**	35,16±1,64**	43,13±3,17**/**
СОД, ум. од.	2,50±0,16	5,40±0,36*	2,72±0,28**	2,93±0,20**	2,70±0,15**
Каталаза, мкат/л	1,63±0,37	3,40±0,11*	2,92±0,21*	2,57±0,26**	2,94±0,21*
Сироватка крові					
МДА, мкмоль/л	1,34±0,06	1,55±0,09	1,43±0,13	1,37±0,07	1,48±0,07
ДК, мкмоль/л	0,03±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01
GSH, ум. од.	18,13±1,65	24,38±1,92*	25,94±1,58*	52,21±7,09**/**/**	17,35±1,02**/**
СОД, ум. од.	2,51±0,26	3,74±0,16*	2,87±0,15**	3,43±0,18**/**	3,20±0,16**/**

Примітка.

- * – відхилення показника достовірне стосовно групи інтактного контролю.
- ** – відхилення показника достовірне стосовно групи контрольної патології.
- *** – відхилення показника достовірне стосовно силібору.

Таким чином, в умовах гострого токсичного гепатиту встановлено виражену антиоксидну активність піфламіну на рівні референс-препарату силібору, що пов'язано з антирадикальними та антиокисними властивостями біофлавоноїдів, які присутні в обох препаратах.

ВИСНОВКИ. 1. Аналіз результатів проведених досліджень дозволяє стверджувати, що в основі гепатозахисних властивостей піфламіну лежить антиоксидний ефект БАР гороху посівного, завдяки яким препарат усуває токсичний вплив продуктів ПОЛ на

печінку і підвищує фізіологічні можливості АОС.

2. Зіставлення антиоксидного ефекту піфламіну в досліджуваних дозах указує на деяку перевагу більш високої дози – 150 мг/кг.

3. Порівняльний аналіз ефективності досліджуваних рослинних поліфенольних препаратів в умовах експериментального гострого тетрахлорметанового гепатиту свідчить про однаковий за силою інгібуючий вплив піфламіну і силібору на процеси ліпопероксидації і дозволяє говорити про їх взаємозамінність в умовах клініки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ажунова Т.А. Повреждения печени и их фармакотерапия. – Улан-Удэ: БНЦ СО СССР, 1991. – 98 с.
2. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. – М.: Наука, 1984. – 160 с.
3. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных материй на аутоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биол. – 1976. – № 1. – С. 33-35.
4. Гордиенко А.Д. Гепатопротекторный механизм действия флавоноидов // Фармация. – 1990. – № 3. – С. 75-78.
5. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.
6. Дейнеко М.Ф., Шапоренко А.И. Влияние силибора на желчеобразовательную функцию печени в эксперименте и клинике // Гастро-

энтерология. – 1985. – Вып. 17. – С. 7-9.

7. Дроговоз С.М., Слышков В.В., Сальникова С.И. Гепатозащитная активность оксикоричных кислот // Гастроэнтерология. – 1992. – Вып. 24. – С. 12-15.

8. Иванов Ю.И., Погорелюк Р.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. – М.: Медицина, 1990. – 224 с.

9. Королук М.А, Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С.16-19.

10. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. Клиническая фармакология гепатопротекторов. – Тернополь: Збруч, 1995. – 271 с.

11. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 320 с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ НОВОГО ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ПИФЛАМИНА

О.А. Герасимова

НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено экспериментальное исследование влияния препарата с травы гороха посевного – пифламина – на процессы свободнорадикального окисления в условиях острого тетрахлорметанового гепатита. Установлено выраженную антиоксидную активность препарата в дозе 150 мг/кг. Пифламин, благодаря комплексу действующих веществ гороха посевного, на уровне гепатопротектора силибора ингибирует процессы липопероксидации в печени и повышает активность антиоксидной системы опытных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пифламин, биофлавоноиды, антиоксидные свойства, перекисное окисление липидов, гепатопротекторные препараты, токсический гепатит.

AN EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE EFFECT OF A NEW HEPATOPROTECTOR PIFLAMIN ON THE FREE RADICAL OXIDATION PROCESSES

O.A. Gerasimova

NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

An experimental research of influence of the Pifflamin on the free radical oxidation processes in the conditions of acute tetrachlormethan hepatitis has been carried out. An obvious antioxidant activity of the preparation in a dose of 150 mg/kg has been established. Owing to the acting substances of the peas sowing complex, pifflamin inhibits lipid peroxidation processes in a liver at the level of hepatoprotector sylibor and increases activity of the antioxidant system in experimental animals.

KEY WORDS: pifflamin, bioflavonoids, antioxidant properties, lipid peroxidation, hepatoprotectors, toxic hepatitis.

Отримано 02.01.2001 р.

Адреса для листування: ЦНДЛ, Національна фармацевтична академія України, вул. Мельникова, 12, 61002, Харків-2, Україна.

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

ВПЛИВ КОРДІАМІНУ І БЕМЕГРИДУ НА МОНООКСИГЕНАЗНУ ФЕРМЕНТНУ СИСТЕМУ ЛЕГЕНЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ НЕСПЕЦИФІЧНОМУ ЗАПАЛЬНОМУ ЗАХВОРЮВАННІ ЛЕГЕНЬ

Т.С. Саатов¹, П.С. Зуфаров², А.В. Якубов²
 ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ АКАДЕМІЇ НАУК РЕСПУБЛІКИ УЗБЕКИСТАН, ТАШКЕНТ¹
 ДРУГИЙ ТАШКЕНТСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ²

На експериментальній моделі хронічного неспецифічного запального захворювання легень у щурів вивчено вплив кордіаміну і бемегриду на монооксигеназну ферментну систему легень. Встановлено, що аналептики кордіамін і бемеGRID чинять індуктивний вплив на систему цитохром Р-450-залежних монооксигеназ легень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: монооксигеназна система легень, кордіамін, бемеGRID.

ВСТУП. Оскільки легені є основними воротами для потрапляння повітряних політантів і важливою мішенню для токсинів хімічного походження, вони, крім своєї основної функції в газообміні, мають самостійну систему біотрансформації за допомогою ферментів цитохром Р-450-залежних монооксигеназ [4]. Природно, яка ця система детоксикації є визначальною ланкою, що перешкоджає виникненню патологічного процесу в легенях, і лише її неспроможність дає можливість "прорватися" токсичним чинникам і викликати захворювання. Поступово порушується функціонування інших механізмів захисту бронхолегеневої системи: порушуються відтворення та якість легеневого сурфактанта, взаємовідносини в системі антиоксидного захисту і пероксидації ліпідів, змінюється миготливий кліренс, здатність макрофагів до фагоцитозу тощо.

Тому вивчення функціональної активності монооксигеназної ферментної системи (МОФС) легень при бронхолегеневих захворюваннях і впливу на цю систему лікарських засобів з індуктивними властивостями можна вважати обґрунтованим і доцільним. Широке застосування потужних індукторів МОФС – протиепілептичних засобів бензоналу і фенобарбіталу – дещо обмежене у зв'язку з їх снодійним і седативним ефектами. Тому актуальним є пошук лікарських засобів, яким

© Т.С. Саатов – академік АН Республіки Узбекистан, д.б.н., проф., П.С. Зуфаров – к.м.н., А.В. Якубов – д.м.н., 2001.

були б притаманні індуктивні властивості на МОФС легень і які не мали б побічних дій, характерних для барбітуратів.

З огляду на вищевикладене, метою даного дослідження було вивчення можливої індуктивної дії на МОФС легких аналептиків кордіаміну і бемеGRID при хронічних неспецифічних запальних захворюваннях легень (ХНЗЛ) у щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самцях змішаної популяції масою тіла 160-220 г. Експериментальну модель ХНЗЛ відтворювали методом М.А. Захар'єва та Н.Н. Анічкова (1952) у нашій модифікації [3]. Після цього тварин поділили на 3 групи: 1-у групу становили щури з експериментальним хронічним неспецифічним запальним захворюванням (ЕХНЗЛ), яких не лікували; 2-й групі підшкірно вводили кордіамін у дозі 40 мг/кг; 3-й групі – підшкірно бемеGRID у дозі 12,5 мг/кг. Препарати вводили щодня протягом 6 діб. Тварин забивали шляхом одномоментної декапітації через добу після останнього введення кордіаміну і бемеGRID. Про функціональну активність МОФС легень судили за вмістом цитохрому Р-450 та активністю ферментів НАДФН-цитохром С-редуктази й амідопірин-*N*-деметилази. Вміст цитохрому Р-450 [7] та активність НАДФН-цитохром С-редуктази [8] визначали в мікросомальній фракції гомогенату легень, а активність амідопірин-*N*-деме-

тилази [5] – в надосадовій рідині. Контролем були показники інтактних щурів.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених досліджень показали, що при ЕХНЗЛ відбуваються значні порушення функціональної активності МОФС легень (табл. 1). Так, вміст цитохрому Р-450 зменшується більше ніж у 2 рази, а активність НАДФН-цитохром С-редуктази й амідопірин-*N*-деметилази – в 1,5 рази нижча від показників інтактних тварин. Це підтверджує той факт, що цитохром Р-450-залежна монооксигеназна система легень дуже чутлива до дії патогенетичних факторів ХНЗЛ [6], а відновлення її активності й функціонування без впливу особливих консервативних або інших чинників викликає сумнів.

Отриманні результати щодо вивчення дії кордіаміну на МОФС легень свідчать про те, що під впливом препарату вміст цитохрому Р-450 збільшується на 77,1 %, а активність НАДФН-цитохром С-редуктази – на 24,8 %, порівняно з групою тварин, яких не лікували. Вплив кордіаміну на активність амідопірин-*N*-деметилази був менш значним і виявився статистично недостовірним. Отримані нами результати вказують на те, що даний препарат чинить індуктивний вплив на систему цитохром Р-450-залежних монооксигеназ легень при ЕХНЗЛ у щурів. І це співпадає з даними ряду авторів [1, 2], які у своїх дослідженнях довели наявність у кордіаміну індуктивних властивостей на монооксигеназну систему печінки.

У 3-й групі тварин з ЕХНЗЛ, яких лікували бемегридом, також спостерігались помітні

Таблиця 1 – Вміст і активність деяких ферментів монооксигеназної системи легень при ЕХНЗЛ у щурів і вплив на них кордіаміну і бемегриду

Група тварин	Цитохром Р-450, нмоль/мг білка	НАДФН-цитохром С-редуктаза, нмоль/мг білка хв	Амідопірин- <i>N</i> -деметилаза, нмоль/мг білка хв
Інтактні	0,148±0,014	66,67±2,00	0,232±0,021
ЕХНЗЛ	0,070±0,006*	40,70±2,29*	0,155±0,013*
ЕХНЗЛ+кордіамін	0,124±0,008**	50,80±3,03**	0,189±0,016
ЕХНЗЛ+бемеGRID	0,156±0,020**	61,40±2,14**	0,285±0,012**

Примітка. * – зміни достовірні порівняно з показниками інтактної групи; ** – зміни достовірні порівняно з показниками групи нелікованих тварин.

зміни в показниках цитохром Р-450-залежних монооксигеназ. Так, вміст цитохрому Р-450 збільшився на 122,8 %, порівняно з групою щурів, яких не лікували. А активність ферментів НАДФН-цитохром С-редуктази й амідопірин-*N*-деметилази підвищилась на 50,8 % і 83,8 % відповідно. Слід відзначити, що ці показники досягають значення контрольних тварин.

Отже, бемеGRID повністю відновлює пригнічену функціональну активність системи цитохром Р-450-залежних монооксигеназ легень. Можна припустити, що бемеGRID, поряд з основним його фармакодинамічним ефектом

при ЕХНЗЛ, володіє також коригувальним впливом на порушені метаболічні процеси в легеневій тканині, що може мати певне значення в забезпеченні легеневого гомеостазу при респіраторних захворюваннях.

ВИСНОВОК. Отриманні результати досліджень свідчать про те, що аналептики кордіамін і бемеGRID чинять індуктивний вплив на систему цитохром Р-450-залежних монооксигеназ легень при ЕХНЗЛ. При цьому індуктивна активність бемеGRIDу дещо перевищує індуктивний ефект кордіаміну.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бушма М.И., Заводник Л.Б., Лукиенко П.И. К вопросу о влиянии диэтиламида никотиновой кислоты (кордиамин) на гидроксигирующую функцию печени // Фармакол. и токсикол. – 1989. – 52, № 4. – С. 56-59.
2. Бушма М.И., Лукиенко П.И. Сравнительное изучение влияния никотиноамида и диэтилникотиноамида на монооксигеназную, глюкуронил и

глютатионконъюгирующие системы печени // Бюлл. эксперим. биол. – 1990. – № 12. – С. 633-635.

3. Зуфаров П.С., Хакимов З.З. Способ моделирования хронического неспецифического воспалительного заболевания легких у крыс // Узбекский биол. журн. – 1998. – № 1. – С. 8-11.

4. Каримов Х.Я., Карабанович А.К., Хакимов З.З. Патогенетическое значение монооксигеназной

системы в биотрансформации эндобиотиков. – Ташкент, 1995. – 163 с.

5. Попов П. Определяне на пирамидоновата N-деметилаза в черния дроб на плъхове // Экспер. мед. – 1973. – **12**, № 3. – С. 130-135.

6. Усманов Р.И., Зуева Е.Б., Рустамов Б.Р., Якубов А.В. Особенности системы метаболизма ЛС в легких и адаптивно-патологические изменения при поражении легких // 14 Европейская рабочая

конференция по лекарственному метаболизму. – Франция, 1994. – С. 297.

7. Omura T., Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature // J. Biol. Chem. – 1964. – **39**. – P. 2370-2378.

8. Wilson J. T. Growth hormone modulation of liver drug metabolic enzyme activity in the rat. I. Effect on the cytochrome P-450 // Biochim. Pharmacol. – 1973. – **22**, №14. – P. 1717-1728.

ВЛИЯНИЕ КОРДАМИНА И БЕМЕГРИДА НА МОНООКСИГЕНАЗНУЮ ФЕРМЕНТНУЮ СИСТЕМУ ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ЗАБОЛЕВАНИИ ЛЕГКИХ

Т.С. Саатов¹, П.С. Зуфаров², А.В. Якубов²

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ АКАДЕМИИ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН, ТАШКЕНТ¹
ВТОРОЙ ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ²

Резюме

На экспериментальной модели хронического неспецифического воспалительного заболевания легких у крыс изучено влияние кордамина и бемегирида на монооксигеназную ферментную систему легких. Установлено, что аналептики корdiamин и бемегирид оказывают индуктивное влияние на систему цитохром P-450-зависимых монооксигеназ легких.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **монооксигеназная система легких, корdiamин, бемегирид.**

EFFECT OF CORDIAMINE AND BEMEGRIDE ON PULMONARY MONOOXYGENASE ENZYMATIC ACTIVITY AT EXPERIMENTAL CHRONIC PULMONARY INFLAMMATORY DISEASE

T.S. Saatov¹, P.S. Zufarov², A.V. Yakubov²

INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, ACADEMY OF SCIENCE, REPUBLIC OF UZBEKISTAN, TASHKENT¹
THE SECOND TASHKENT STATE MEDICAL INSTITUTE²

Summary

Effect of cordiamine on pulmonary monooxygenase enzymatic activity has been studied on experimental model of chronic pulmonary inflammatory disease in rats. Analeptics, such as, cordiamine and bemegrade produce inductive effect on the system of cytochrom P-450-dependent monooxygenases of lungs.

KEY WORDS: **pulmonary monooxygenase system, cordiamine, bemegrade.**

Отримано 24.01.2001 р.

Адреса для листування: Т.С. Саатов, Інститут біохімії АН республіки Узбекистан, проспект Х. Абдулаєва, 56, 700143, Ташкент, Узбекистан; e-mail: saatov@biohim.org.uz.

СУДОВІ ХІМІКО-ФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ У ПАТОМОРФОЛОГІЧНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ НОВОГО СИЛЬНОДІЮЧОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ В ДОКЛІНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

В.В. Шаповалов^{1,3}, Ю.І. Губський², В.О. Шаповалова³
НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ³
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ²
СЛІДЧЕ УПРАВЛІННЯ УМВС УКРАЇНИ В ХАРКІВСЬКІЙ ОБЛАСТІ¹

На базі досліджень, проведених у ході виконання судових хіміко-фармацевтичних експертиз, розроблено склад нового комбінованого сильнодіючого лікарського засобу, який віднесено у номенклатурі класифікаційно-правових груп лікарських засобів до сильнодіючих речовин. Судова хіміко-фармацевтична оцінка свідчить про те, що при багаторазовому введенні тваринам розробленого засобу, загальнотоксична дія не спостерігається.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: судові хіміко-фармацевтичні аспекти, новий комбінований сильнодіючий засіб, патоморфологічні дослідження.

ВСТУП. На основі відомих фармакологічних субстанцій (сильнодіючих (С) та психотропних (П) речовин) було створено новий комбінований сильнодіючий засіб (НКСЗ), до складу якого входять 25 % метамізолу натрію і 0,2 % діазепаму, розчинені в спирто-водневій (1:5) суміші [1, 3].

За допомогою патоморфологічних досліджень оцінювали різні тканини при введенні данного НКСЗ [2, 4].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження НКСЗ проводили на нелінійних щурах-самцях з масою тіла 230-250 г, яких утримували в умовах віварію. 30 тварин було поділено на 3 групи методом випадкової вибірки. Кожна з 3 експериментальних груп (2 дослідні й 1 контрольна) складалася з 10 тварин. Щурам досліджуваних груп щодобово протягом 10 діб внутрішньом'язово (в м'яз стегна) вводили НКСЗ у кількості 0,06 (дослід 1) та 0,60 (дослід 2) мг/кг маси тіла, що складало терапевтичну та десятикратну терапевтичну дози. Тваринам контрольної групи вводили відповідний об'єм 20 % водного розчину етанолу. В подальшому їх піддавали декапітації після ефірного наркозу. Об'єктом морфологічних досліджень були головний мозок та внутрішні органи: серце, нирки, шлунок, тонка кишка, сім'яники, щитоподібна залоза, печінка, селезінка, надниркові залози, легені. Фрагменти перелічених органів

© В.В. Шаповалов – к.фарм.н., Ю.І. Губський – чл.-кор. АМН України, д.м.н., проф., В.О. Шаповалова – д.фарм.н., проф., 2001.

та тканин занурювали в рідину карнуа та 12 % нейтральний формалін, проводили крізь розчини етанолу, концентрація якого зростала, і заливали парафіном. Виготовлені зрізи фарбували гематоксиліном й еозином. Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Макроскопічні дослідження тварин показали, що вони помірно вигодувані, шерсть гладка і чиста, голова, очі, грудна клітка, живіт і місце введення (стегно задньої лапки) НКСЗ без патологічних змін. На розтині – грудна і черевна порожнини, а також головний мозок та внутрішні органи без видимих пошкоджень.

У результаті мікроскопічного вивчення більшості досліджуваних органів (серце, нирки, шлунок, тонка кишка, сім'яники, щитоподібна залоза) тварин, яким протягом 10 діб вводили як терапевтичну дозу НКСЗ, так і дозу, що перевищує терапевтичну в 10 разів, деструктивних та дистрофічних змін не виявлено. У тварин також не виявлено яких-небудь гемодинамічних порушень та запальних реакцій у вивчених тканинах.

В оболонках і тканинах головного мозку, а також у судинних сплетеннях тварин, не відзначено застійних явищ. Нейрони кори та підкіркових утворень нормохромні, без наявності деструктивних і дистрофічних порушень.

Архітектоніка печінки не порушена, печінкові балки мали радіальну направленість. Паренхіматозні клітини мали полігональну форму

з чіткими межами, в цитоплазмі їх виявляли велику кількість базофільних глибок. Ядра круглі, з дрібними зернами хроматину. Судини триад, жовчні капіляри, синусоїди – в межах норми. У 2-х щурів, яким вводили десятиразову терапевтичну дозу НКСЗ, реакція клітин Купфера посилена, що свідчить про незначну гіперплазію та гіпертрофію.

Селезінка тварин мала звичайну будову. Чітко контурувалися червона та біла пульпи, в яких не спостерігали підвищеного розпаду елементів, а також не виявляли циркуляторних розладів. Проте слід відзначити, що в селезінці щурів, яким вводили дозу НКСЗ, що перевищує терапевтичну в 10 разів, збільшився вміст другорядних фолікулів. Реактивні центри їх значно розширені й заповнені лімфоїдними клітинами з великими просвітленими ядрами. Великі лімфоцити розташовані в декілька шарів, утворюючи перифолікулярні зони. Під капсулою, в напрямку руху ряду трабекул, визначалися скупчення з малих лімфоцитів.

У надниркових залозах чітко розрізнялися кіркова і мозкова речовини. У секреторних клітинах і проміжних тканинах не спостерігали патоморфологічних змін. Епітеліальні клітини кіркової і мозкової речовин обох дослідних груп відповідали таким контрольних тварин. Слід зазначити, що в одного щура, який отримав десятиразову дозу НКСЗ, у сітчастій зоні кіркової речовини виявили гемодинамічні пору-

шення, які супроводжувалися розширенням та повнокрів'ям судин мікроциркуляторного русла.

Проведені морфологічні дослідження свідчать про те, що повторне введення НКСЗ у терапевтичній дозі протягом 10 діб не викликає патоморфологічних змін у досліджуваних органах та тканинах. Збільшення дози випробовуваного НКСЗ у 10 разів може спричинити незначний подразливий ефект у тканинах окремих тварин, який супроводжується продуктивною реакцією в селезінці та печінці, а також викликає повнокрів'я судин мікроциркуляторного русла надниркових залоз.

Морфологічну картину міокарда, нирок, головного мозку і печінки при хронічному введенні НКСЗ у кількості 0,06 мг/кг наведено в таблиці 1.

ВИСНОВКИ. 1. На базі досліджень, проведених у ході виконання судових хіміко-фармацевтичних експертиз за запитами правоохоронних органів, розроблено склад НКСЗ, який віднесено у номенклатурі класифікаційно-правових груп лікарських засобів до сильнодіючих речовин.

2. Судова хіміко-фармацевтична оцінка свідчить про те, що при багаторазовому введенні НКСЗ тваринам, за даними патоморфологічних досліджень, у тканинах не виявлено його загальнотоксичної дії.

Таблиця 1 – **Морфологічна картина міокарда, нирок, головного мозку і печінки при хронічному введенні НКСЗ**

Строки дослідження	Спосіб забарвлення	Патоморфологічна картина
24 год після останнього введення НКСЗ внутрішньом'язово протягом 10 діб у терапевтичній дозі	Гематоксилін-еозин	М'язовий синтицій міокарда без патоморфологічних змін
24 год після останнього введення НКСЗ внутрішньом'язово протягом 10 діб у терапевтичній дозі	Гематоксилін-еозин	Морфологічні зміни в кірковому шарі нирки відсутні
24 год після останнього введення НКСЗ внутрішньом'язово протягом 10 діб у терапевтичній дозі	Гематоксилін-еозин	Компактність тканини мозку та цитоархітектоніка не порушені, патологічних змін у нейронах не виявлено
24 год після останнього введення НКСЗ внутрішньом'язово протягом 10 діб у терапевтичній дозі	Гематоксилін-еозин	Змін у печінці не спостерігається

ЛІТЕРАТУРА

1. Батюк В.С. Научные основы разработки лекарственных препаратов в учреждениях отделения химии НАН Украины // Фармакол. – 1998. – № 4. – С. 50-57.

2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.

3. Шаповалов В.В. Розробка науково-практич-

них основ в організації та проведенні судової хіміко-фармацевтичної експертизи лікарських засобів: Автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. – Харків, 1997. – 24 с.

4. Шаповалов В.В. Конструирование новых лекарственных средств на основе известных фармакологических субстанций / V Российский национальный конгресс: Тез. докл. – Москва, 1998. – С. 636.

СУДЕБНЫЕ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ НОВОГО СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩЕГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА В ДОКЛИНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.В. Шаповалов^{1,3}, Ю.И. Губский², В.А. Шаповалова³
НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ³
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ²
СЛЕДСТВЕННОЕ УПРАВЛЕНИЕ УМВД УКРАИНЫ В ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ¹

Резюме

На основании исследований, проведённых в ходе выполнения судебных химико-фармацевтических экспертиз, разработан состав нового комбинированного сильнодействующего лекарственного средства, который отнесен в номенклатуре классификационно-правовых групп лекарственных средств к сильнодействующим веществам. Судебная химико-фармацевтическая оценка свидетельствует о том, что многократное введение животным разработанного средства не вызывает общетоксического действия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **судебные химико-фармацевтические аспекты, новое комбинированное сильнодействующее средство, патоморфологические исследования.**

FORENSIC CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL ASPECTS OF PATHOMORPHOLOGICAL RESEARCH OF NEW DRASTIC MEDICINE IN PRECLINICAL EXPERIMENT

V.V. Shapovalov^{1,3}, Y.I. Gubsky², V.A. Shapovalova³
NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV³
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET, KYIV²
INVESTIGATION MANAGEMENT MMIA OF UKRAINE IN KHARKIV REGION¹

Summary

On basis of investigations made during fulfilment of forensic chemio-pharmaceutical expertise new combined drastic medicine which is referred in the nomenclature of classification-legal groups of medicines to drastic medicines was developed. Forensic pharmaceutical score shows that at multiple administration of developed medicine to animals general toxic effect is not observed.

KEY WORDS: **forensic pharmacy, new combined drastic medicine, pathomorphological researches.**

Отримано 26.01.2000 р.

Адреса для листування: В.В. Шаповалов, вул. Наталі Ужвій, 62/252, 61195, Харків, Україна.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ВОБЕНЗИМУ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ГЕСТАЦІЙНИХ ПІЕЛОНЕФРИТІВ

О.А. Франчук

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У жінок, хворих на гестаційний піелонефрит, спостерігаються активація процесів пероксидації ліпідів (ПОЛ) і пригнічення антиоксидної системи (АОС), а також зниження показників клітинного і гуморального імунітету. Застосування у комплексній терапії піелонефриту вагітних вобензиму призводить до часткової нормалізації рівноваги ПОЛ/АОС і покращання показників імунореактивності організму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гестаційний піелонефрит, пероксидація ліпідів, супероксиддисмутаза, імунітет, вобензим.

ВСТУП. Гестаційні піелонефрити зустрічаються у 2,5-10 % випадків і викликають ряд серйозних ускладнень у перебізі вагітності, пологів та післяпологового періоду, сприяють зростанню материнської і перинатальної смертності [5]. Було показано, що при гестаційних піелонефритах активуються процеси ПОЛ і пригнічується АОС організму, що призводить до дезорганізації мембран клітин, порушення структури їх рецепторного апарату та механізмів репаративної регенерації. Встановлено також пригнічення показників клітинного та гуморального імунітету при даній патології [1].

Питання етіопатогенетичної терапії при гестаційних піелонефритах з урахуванням ролі ПОЛ, АОС, імунологічної реактивності організму вивчено недостатньо. Перспективним у цьому плані може бути застосування ензимного препарату вобензиму, для якого характерний широкий спектр дії (протизапальний, анальгетичний, імуномодулювальний, загальнозміцнювальний ефекти). Метою нашої роботи було патогенетично обґрунтувати доцільність використання вобензиму в комплексній терапії жінок з гестаційними піелонефритами.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами обстежено 87 жінок у II і III триместрах вагітності. Усі жінки були поділені на 3 групи: I група (контрольна) – 21 жінка з фізіологічним перебігом вагітності (11 – у II і 10 – у III триместрах); II група – 48 жінок (27 – у II і 21 – у III триместрах), хворих на гестаційний піелонефрит, яких лікували загальноприйнятими методами; III група – 20 вагітних (11 –

© О.А. Франчук, 2001.

у II і 9 – у III триместрах) з гестаційним піелонефритом, у комплексній терапії яких застосовували вобензим.

При загальноприйнятій терапії призначали антибіотики з урахуванням чутливості до них мікроорганізмів, сульфаніламідів, нітрофуранів, препарати налідиксової кислоти, салуретики, дезінтоксикаційні та десенсибілізуювальні засоби, спазмолітики, вітаміни групи В і С. Вобензим хворим III групи призначали протягом 10-14 днів по 4 драже 3 рази на день до вживання їжі й рекомендували запивати його достатньою кількістю рідини.

У крові хворих до і після проведеного лікування визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) [2], гідроперекисів ліпідів (ГП) [4], малонового діальдегіду (МДА) [3] і активність супероксиддисмутази (СОД) [7]. Для визначення показників імунного статусу організму використовували реакцію непрямой поверхневої імуофлюоресценції за допомогою мишиних моноклональних антитіл (МКА ІКО) [6]. Виявляли моноклональні антитіла у крові проти антигену CD₃, представленого на загальній популяції Т-лімфоцитів; проти антигену CD₄, представленого на Т-хелперній субпопуляції; проти антигену CD₈, представленого на субпопуляції Т-супресорів; проти антигену CD₂₂, присутнього на В-лімфоцитах; проти HLA D_r-антигену, носієм якого є L-детерміновані нуклеари.

Кров брали з ліктьової вени натще зранку в кількості 6-8 мл. Плазму отримували шляхом центрифугування гепаринізованої крові.

Обробку отриманих результатів проводили статистичним методом з використанням критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Показники інтенсивності ПОЛ і активності СОД наведено в таблиці 1. З отриманих результатів видно, що у хворих на гестаційний пієлонефрит, порівняно зі здоровими вагітними, суттєво підвищується швидкість вільнорадикальних реакцій і пригнічується активність одного з основних ферментів АОС – СОД. Як після загальноприйнятої терапії, так і після використання вобензиму відбуваються достовірно зниження показників ПОЛ і підвищення активності СОД. Проте при порівнянні результатів лікування гестаційних пієлонефритів загальноприйнятими методами і комбінованим методом із застосуванням вобензиму виявлено, що у другому випадку терапія була більш ефективною в плані нормалізації показників ліпідної пероксидації. Після проведеної терапії достовірно покращувалися також показники активності СОД у вагітних III групи, порівняно з такими II групи. Очевидно, у виникненні запалення нирок у вагітних жінок певне значення мають мембранодеструктивні процеси і фактори, що їх зумовлюють – активація ПОЛ і пригнічення системи антиоксидного захисту організму.

У жінок із гестаційними пієлонефритами спостерігалось достовірно зниження показників Т- і В-систем імунітету (табл. 1). Традиційна терапія викликала збільшення загальної кількості Т-лімфоцитів, проте недостатньо впливала на їх субпопуляції та В-ланку імунітету. Застосування вобензиму в комплексній терапії, порівняно із загальноприйнятими методами, більш суттєво нормалізувало вміст у крові вагітних Т-лімфоцитів і їх субпопуляцій, особливо Т-хелперів, а також В-лімфоцитів.

Можливо, зниження кількості лімфоцитів у крові вагітних з пієлонефритами зумовлено активацією ліпідної пероксидації, що неминуче призводить до порушення імуногенезу і проліферації клітин попередників.

Клінічна картина при застосуванні в комплексній терапії гестаційних пієлонефритів вобензиму була значно кращою, ніж при лікуванні хворих загальноприйнятими методами. Больовий синдром, нормалізація температури тіла і дизуричні явища проходили на 2-3 дні раніше. Під впливом вобензиму зафіксовано зниження частоти гестозів від 40 до 10 %, загрози переривання вагітності – від 20 до 5 %, анемії – від 35 до 10 %, гіпотрофії плода – від 15 до 5 %. Очевидно, клінічний ефект вобензиму ґрунтується на його здатності пригнічувати реакції ПОЛ, через неспецифічні й специфічні (імунні) механізми впливати на ключові фізіологічні та патологічні процеси в організмі.

ВИСНОВКИ. 1. При гестаційних пієлонефритах мають місце активація ліпопероксидації і пригнічення активності СОД.

2. У вагітних, хворих на гестаційний пієлонефрит, спостерігається значне зниження показників Т- і В-систем імунітету.

3. Застосування в комплексній терапії гестаційних пієлонефритів вобензиму суттєво нормалізує рівновагу ПОЛ/АОС і показники імунореактивності організму.

4. Комплексне лікування гестаційних пієлонефритів із використанням вобензиму є клінічно більш ефективним, ніж лікування загальноприйнятими методами.

Таблиця 1 – Показники ПОЛ, активності СОД і стану імунної системи у вагітних з пієлонефритами, яких лікували загальноприйнятим методом і комбінованим методом із застосуванням вобензиму (М+м)

Показник	Здорові жінки, n=21	Хворі на пієлонефрит			
		Ліковані загальноприйнятими методами		Ліковані вобензимом	
		До лікування, n=48	Після лікування, n=48	До лікування, n=20	Після лікування, n=20
ДК, мкмоль/л	14,49±0,86	19,65±0,05 ¹	18,47±0,88 ^{1,2}	23,78±0,61 ¹	14,26±0,45 ^{2,3}
ГП, ум.од.	0,122±0,005	0,232±0,005 ¹	0,181±0,023 ^{1,2}	0,252±0,007 ¹	0,102±0,003 ^{1,2,3}
МДА, мкмоль/л	0,019±0,002	0,041±0,002 ¹	0,039±0,004 ^{1,2}	0,045±0,001 ¹	0,017±0,001 ^{1,2,3}
СОД, ум.од.	1,55±0,06	1,10±0,02 ¹	1,45±0,04 ^{1,2}	1,27±0,05 ¹	1,52±0,04 ^{2,3}
Т-лімфоцити, %	57,12±0,73	46,83±0,79 ¹	52,13±0,80 ^{1,2}	45,35±2,05 ¹	56,85±1,85 ^{2,3}
Т-хелпери, %	41,70±0,875	38,18±0,64 ¹	39,26±0,49 ¹	37,65±0,60 ¹	44,85±0,75 ^{1,2,3}
Т-супресори, %	15,42±0,68	11,58±0,47 ¹	12,67±0,43 ¹	11,75±0,63 ¹	14,85±0,65 ^{2,3}
В-лімфоцити, %	16,46±0,73	10,70±0,43 ¹	12,08±0,73 ¹	10,55±0,65 ¹	17,45±0,95 ^{2,3}
HLAD,-антиген, %	25,62±0,82	20,68±0,80 ¹	21,38±0,76 ¹	20,45±0,90 ¹	24,75±1,12

Примітка. ¹ – достовірність змін, порівняно з контролем; ² – достовірність змін, порівняно з показниками вагітних відповідної групи до лікування; ³ – достовірність змін, порівняно з показниками II групи вагітних після лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Геєв Ю.В., Ткаченко С.В. Вплив безперервного мембранного плазмофорезу на імуногемостазіологічні показники породіль з гестаційним пієлонефритом // Урологія. – 1999. – **3**, № 4. – С. 25-28.
2. Стальная И.Д. Метод определения диеновой коньюгации ненасыщенных жирных кислот // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64.
3. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
4. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 64-66.
5. Тимошенко Л.В., Дацун І.Г., Пах С.Я. До питання пієлонефриту вагітних // ПАГ. – 1996. – № 5-6. – С. 59-61.
6. Фримель Г. Иммунологические методы исследования. – М.: Медицина, 1987. – 380 с.
7. Чевари С., Чаба Н., Секей И. Роль СОД в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ВОБЕНЗИМА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ГЕСТАЦИОННЫХ ПИЕЛОНЕФРИТОВ

А.А. Франчук

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

У женщин, больных гестационным пиелонефритом, наблюдаются активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и угнетение антиоксидантной системы (АОС), а также снижение показателей клеточного и гуморального иммунитета. Применение в комплексной терапии пиелонефрита беременных вобензима приводит к частичной нормализации равновесия ПОЛ/АОС и улучшения показателей иммунореактивности организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **гестационный пиелонефрит, пероксидация липидов, супероксид-дисмутаза, иммунитет, вобензим.**

EFFICIENCY OF WOBENZYM IN THE COMPLEX THERAPY OF GESTATIONAL PYELONEPHRITIS

O.A. Franchuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The activation of lipid peroxidation (LPO) and antioxidant system (AOS) depression as well as the decrease of cell and humoral immunity indexes were observed in pregnant women with gestational pyelonephritis. The usage of wobenzym in complex therapy of pyelonephritis was found to normalize the equilibrium LPO/AOS and improve the immune system indexes.

KEY WORDS: **gestational pyelonephritis, lipid peroxidation, superoxide dismutase, immunity, wobenzym.**

Отримано 15.01.2001 р.

Адреса для листування: О.А. Франчук, кафедра акушерства та гінекології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, 46001, Тернопіль, Україна.

КОМБІНОВАНА ДІЯ ТРИВАЛОГО ДРОБНОГО ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ І ХРОНІЧНОЇ НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ПРООКСИДНО-АНТИОКСИДНУ СИСТЕМУ ПЕЧІНКИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКОВОГО АСПЕКТУ

О.В. Горішна, Б.М. Горішний

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

Білі щури дослідних груп 1, 3, 6, 12 місяців життя протягом 3-х місяців щоденно отримували перорально нітрат натрію в дозі 0,5 г/кг маси тіла на добу й одночасно екстракорпорально гамма-опромінення кожні 9 днів по 0,2 Гр в сумарній дозі 2 Гр. Виявлено посилення вільнорадикального перекисного окислення, зниження активності каталази і супероксиддисмутази в печінці тварин. Найбільш виражені й глибокі зміни прооксидно-антиоксидної системи розвинулись у печінці щурів, які зазнавали вказаного впливу з першого місяця життя.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гамма-опромінення, нітратна інтоксикація, комбінована дія, прооксидно-антиоксидна система печінки, віковий аспект.

ВСТУП. Завдяки багатокомпонентному забрудненню навколишнього середовища і вторгненню в гомеостаз організму людини різноманітних ксенобіотиків створюються сприятливі умови для виникнення "хімічного стресу". Найбільш поширеною серед хімічних інтоксикацій є нітратна інтоксикація, яка супроводжується гемічною та тканинною гіпоксією. Нітрати завжди надходили в організм людини і тварин в невеликій кількості. Крім того, вони можуть синтезуватися ендогенно в клітинах органів і тканин. Основними джерелами надходження нітратів в організм людини є питна вода, продукти рослинного походження і, меншою мірою, продукти тваринного походження. Рівень нітратів у питній воді залежить від їх вмісту в підземних водах і значно змінюється від регіону до регіону. Гранично допустимою концентрацією нітратів у воді в більшості розвинутих країн, у тому числі в Україні, є 45 мг/л. Але, на жаль, на сьогодні ми маємо ряд регіонів, де концентрація нітратів у підземних водах і, відповідно, в колодязній воді в десятки разів перевищує допустиму норму. До таких локальних критичних санітарно-екологічних зон відносяться і деякі райони Полтавської області. У них проживає досить велика кількість дітей-переселенців та дітей із сімей ліквідаторів аварії на ЧАЕС. Це викликає серйозні занепокоєння щодо стану їхнього здоров'я, насамперед стану гепатобіліарної системи, оскільки вона є дезінтоксикаційним центром

© О.В. Горішна – к.м.н., Б.М. Горішний, 2001.

організму. Відомо, що суттєве значення для функціонування печінки має стан її прооксидно-антиоксидної системи, яка включає генерацію активних форм кисню, що ініціює вільнорадикальне окислення і лімітується антиоксидним захистом.

В експериментальних роботах ряду авторів показано, що печінку за гістологічними змінами і параметрами змін перекисного окислення ліпідів важко віднести до четвертого класу радіорезистентних органів [2, 3], а гостра нітратна інтоксикація викликає значні зміни прооксидно-антиоксидного гомеостазу й енергетичного метаболізму [1]. Ми довели, що тривале дробне гамма-опромінення, як і хронічна нітратна інтоксикація, призводить до посилення неферментативного вільнорадикального перекисного окислення і виснаження антиоксидного захисту в печінці щурів. При цьому, чим молодшими були тварини, тим більш глибокі зміни викликали зазначені фактори. Їх комбіновану дію до цього часу не враховували. Тому метою нашої роботи було подальше дослідження комбінованого впливу тривалого дробного гамма-опромінення та хронічної нітратної інтоксикації на прооксидно-антиоксидну систему печінки білих щурів залежно від їх віку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для моделювання зазначеної екологічно небезпечної ситуації було проведено досліди на білих щурах-самцях.

Таблиця 1 – Стан прооксидно-антиоксидної системи печінки білих щурів різного віку після гамма-опромінення і введення нітратів

Показники	Інтактна група n=20	Групи комбінованої дії гамма-опромінення і хронічної нітратної інтоксикації, місяці			
		1 n=16	3 n=22	6 n=25	12 n=24
МДА-0, мкмоль/кг	13,86±0,42	18,27±0,29*	16,31±0,18*	15,24±0,21*,**	15,76±0,19*,**
МДА-1,5, мкмоль/кг	15,74±0,21	20,32±0,18*	17,68±0,23*,**	17,23±0,14*,**	16,94±0,19*,**
Приріст МДА, мкмоль/кг	1,88±0,12	2,05±0,27	1,37±0,18*	1,99±0,13	1,18±0,16*
Каталаза, од.	14,21±0,23	4,17±0,18*	8,45±0,41*,**	10,03±0,24*,**	10,11±0,37*,**
СОД, од.	2,42±0,09	1,29±0,14*	1,48±0,06*	1,57±0,15*	1,49±0,18*

Примітка. При $p < 0,05$ * – порівняння з величинами інтактною групи, ** – з 1-місячною групою.

Інтактну групу склали 18 тварин віком 6 місяців. Щури дослідних груп протягом трьох місяців одержували перорально щоденно нітрат натрію в дозі 0,5 г/кг маси тіла (0,058 ЛД₅₀) і одночасно екстракорпорально гамма-опромінення кобальтовою пушкою "Агат" кожні 9 днів по 0,2 Гр в сумарній дозі 2 Гр.

Піддослідних тварин за віком поділили на 4 групи. I група – щури віком 1 місяць, II – 3 місяці, III – 6 місяців, IV – 12 місяців. Евтаназію тварин проводили під гексеналовим наркозом шляхом взяття крові із серця. У тканині печінки визначали вміст вторинних продуктів перекисного окислення, що реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою, серед них переважає малоновий діальдегід (МДА). Концентрацію МДА досліджували до (МДА-0) і після (МДА-1,5) півторагодинної інкубації гомогенату в прооксидному залізо-аскорбатному буферному розчині, що, відповідно, вказувало на рівень пероксидації й антиокислювального потенціалу. Крім того, досліджували активність антиоксидних ферментів: каталази і супероксиддисмутази (СОД) [4]. Отримані дані статистично обробляли відповідно до критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На підставі проведеного аналізу виявлено, що в печінці всіх досліджуваних груп тварин, порівняно з нормою, збільшувався рівень перекисного окислення. Однак приріст МДА за 1,5 години інкубації практично не відрізнявся від

норми (за винятком достовірного зменшення при дії нітратами й опроміненням щурів з 12 місяців життя), що свідчить про активність антиоксидного потенціалу. В усіх досліджуваних групах знижувалась активність антиоксидних ферментів: каталази та супероксиддисмутази. Однак суми ефектів радіації і нітратної інтоксикації не виявляли. Звертає на себе увагу невелике, але достовірне зниження активності каталази, порівняно з нормою, в групах тварин віком 3, 6, 12 місяців. Наступною особливістю змін, які вивчалися, була їх залежність від віку. Серед дослідних груп максимальні величини концентрації МДА печінки до і після інкубації відмічалися в наймолодшій віковій групі. Активність каталази мінімальна також у тій групі тварин, де радіаційна і токсична дія мала місце з 1 місяця життя. Усі відмінності показників цієї групи від величин інших досліджуваних груп статистично достовірні.

З цього випливає, що групи раннього віку більше чутливі до даних патологічних факторів.

ВИСНОВКИ. 1. Комбінована хронічна дія нітрату натрію і дробних доз гамма-опромінення викликає посилення вільнорадикального перекисного окислення, зниження активності каталази і супероксиддисмутази в печінці білих щурів.

2. Найбільш виражені й глибокі зміни прооксидно-антиоксидної системи виявляли в тих тварин, які зазнавали вказаної дії з першого місяця життя.

ЛІТЕРАТУРА

1. Глебова Л.Ю., Костенко В.А., Цебржинский О.И. Влияние интоксикации нитратами на антиоксидантный статус в тканях печени в эксперименте // Вестн. пробл. биол. и мед. – 1997. – Вып. 2. – С. 46-51.
2. Пилипченко В.И., Цебржинский О.И. Сочетанное воздействие лазерного и гамма-излучения в эксперименте и влияние антиоксидантов // Вестн. пробл. биол. и мед. – 1997. – Вып. 7. – С. 146-151.

3. Пилипченко В.И., Цебржинский О.И. Митотические и кариометрические особенности клеток печени после лазерного и гамма-облучений в эксперименте // Укр. мед. альманах. – 1998. – № 3. – С. 52-54.

4. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині / Під ред. І.П. Кайдашева, О.В. Катрушева, В.М. Соколенко. – Полтава, 1996. – 271 с.

КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ДРОБНОГО ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ И ХРОНИЧЕСКОЙ НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ПРООКСИДНО-АНТИОКСИДНУЮ СИСТЕМУ ПЕЧЕНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТНОГО АСПЕКТА

О.В. Горишная, Б.М. Горишный

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

Резюме

Белые крысы опытных групп с 1, 3, 6, 12 месяцев жизни на протяжении 3-х месяцев ежедневно получали перорально нитрат натрия в дозе 0,5 г/кг массы тела в сутки и одновременно экстракорпорально гамма-облучение каждые 9 дней по 0,2 Гр в суммарной дозе 2 Гр. Обнаружено усиление свободнорадикального перекисного окисления, снижение активности каталазы и супероксиддисмутазы в печени животных. Наиболее выраженные и глубокие изменения прооксидно-антиоксидной системы развились в печени тех крыс, которые подвергались указанному воздействию с первого месяца жизни.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **гамма-облучение, нитратная интоксикация, сочетанное действие, прооксидно-антиоксидная система печени, возрастной аспект.**

COMBINED INFLUENCE OF THE PROLONGED FRACTIONAL GAMMA-IRRADIATION AND CHRONIC NITRATE INTOXICATION IN EXPERIMENT ON PROOXIDE-ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE LIVER IN DEPENDANCE OF THE AGE ASPECT

O.V. Horishna, B.M. Horushny

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

Summary

The white rats of the experimental groups aged 1, 3, 6, 12 month received sodium nitrate in the dose 0,5 gr/kg perorally daily and simulteneously gamma-irradiation every 9 days 0,2 Gr for the period of 3 months when summary dose was 2 Gr extracorporally. There was revealed the strengthening of free radical peroxidation, the lowering of catalase and superoxyddismutase activity in the liver. The most expressed and deep alteration on prooxide-antioxidant system have developed in the liver of those rats which were exposed to the above mentioned influence from the first month of life.

KEY WORDS: **gamma-irradiation, nitrate intoxication, combined action, prooxide-antioxidant system, liver, age aspect.**

Отримано 11.05.2000 р.

Адреса для листування: О.В. Горишна, кафедра пропедевтики дитячих хвороб з доглядом за дітьми, Українська медична стоматологічна академія, вул. Чураївни, 9/25, Полтава, Україна

ВПЛИВ ЕРБІСОЛУ НА СТАН АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗУ

Л.Д. Борейко, І.Ф. Мецишен, О.М. Ніколаєнко
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

За умов експериментального остеоартрозу (ЕОА) вивчено вплив ербісолу на стан антиоксидного захисту організму щурів. Дванадцятиденне введення тваринам ербісолу (0,04 мл/кг) на фоні ЕОА викликало повне відновлення в печінці показників антиоксидного захисту (відновленого глутатіону, активності глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази, каталази), нормалізацію рівнів окислювальної модифікації білків та церулоплазміну в крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний остеоартроз, ербісол, відновлений глутатіон, антиоксидні ферменти, церулоплазмін, окислювальна модифікація білків.

ВСТУП. Остеоартроз (ОА) – дистрофічне захворювання суглобів, в основі якого лежить прогресуюча дегенерація суглобового хряща аж до його повного руйнування. Пошук препаратів, які б проявляли належний терапевтичний ефект при ОА, не мали побічних впливів і не давали ускладнень, є сьогодні надзвичайно актуальним завданням. Нашу увагу привернув новий вітчизняний препарат ербісол. Це біологічний середник, отриманий з різних тканин і органів ембріонів телят. Він проявляє різнопланову, стимулювальну дію на порушені метаболічні процеси в ураженому організмі [9]. При введенні ербісолу хворим встановлено його репаративну, антиалергічну, антиоксидну, гастро-, гепато-, кардіо-, вазо-, цитопротекторну дії [1, 9].

Метою дослідження було обґрунтування використання ербісолу при лікуванні ОА.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих щурах самцях масою тіла 180-200 г. Експериментальну модель первинного остеоартрозу викликали шляхом внутрішньочеревинного введення папаїну з розрахунку 1 мг на 100 г маси тварини чотирикратно 1 раз на 4 доби [10]. Щурів розділили на 4 групи: 1 – інтактні (здорові); 2 – тварини з ЕОА (неліковані); 3 – тварини з ЕОА, яким додатково внутрішньом'язово вводили ербісол (0,04 мл/кг) впродовж 12 днів; 4 – тварини з ЕОА, яким внутрішньом'язово вводили диклофенак (1,5 мг/кг) протягом 12 днів. Декалітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 7-й

і 12-й день ЕОА. Дослідженню піддавали печінку та плазму крові тварин. У печінці вивчали вміст відновленого глутатіону [7], активність глутатіонпероксидази [2], глутатіонтрансферази [2] та каталази [4]. У плазмі крові визначали рівень окислювальної модифікації білків [5] та церулоплазміну [3].

Результати підлягали статистичному аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень (табл.1) показали, що ЕОА викликає достовірне зниження в печінці рівня відновленого глутатіону як на 7-й, так і на 12-й день експериментальної патології. У ці ж строки експерименту нами відзначено підвищення активності глутатіонпероксидази (на 29 і 9 % відповідно) та каталази (на 40 і 23 % відповідно) і зниження активності глутатіонтрансферази (на 35 і 23 % відповідно).

Введення тваринам з ЕОА ербісолу впродовж 12 днів викликало нормалізацію всіх біохімічних показників, які вивчалися в печінці. Що стосується диклофенаку, то його вплив був різнонаправлений: він нормалізував вміст відновленого глутатіону і достовірно знижував активність глутатіонпероксидази та каталази.

При ЕОА на 7-й день експерименту спостерігали різке зростання в плазмі крові рівня окислювальної модифікації білків (на 98 %) та церулоплазміну (на 83 %), порівняно з контролем. На 12-й день характер змін залишався таким же (табл. 2). Тижневе введення щурам ербісолу знижувало вміст модифікованих білків та церулоплазміну до рівня ін-

© Л.Д. Борейко, І.Ф. Мецишен – д.б.н., проф.,
О.М. Ніколаєнко – к.б.н., 2001.

тактих тварин. Введення тваринам у такий строк диклофенаку викликало незначне зниження рівня досліджуваних показників, хоча вони залишалися вищими, ніж у контролі. 12-денне введення диклофенаку на фоні ЕОА нормалізувало вміст модифікованих білків плазми крові, тоді як рівень церулоплазміну залишався достовірно підвищеним.

Пригнічення антиоксидної глутатіонової системи при ЕОА спостерігали в печінці й у цільній крові на фоні активації пероксидного окислення ліпідів [6]. Зниження рівня відновленого глутатіону в печінці (основного місця його синтезу) пов'язане, насамперед, із гальмуванням при ЕОА активності глутатіонредуктази і, особливо, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – основного постачальника НАДФН. Активацію пероксидного окислення ліпідів розглядали як результат посиленого утворення активних форм кисню – з одного боку, і пригнічення систем антиоксидного захисту – з другого [6, 8]. Більш чутливим до дії активних форм кисню є білки [8]. Рівень модифікованих

білків плазми крові залежить від антиоксидного статусу організму. Проведені нами дослідження показали, що вітчизняний препарат ербісол проявляє виражені антиоксидні властивості й може бути рекомендований для лікування хворих на остеоартроз.

ВИСНОВКИ. 1. ЕОА призводить до активації процесів пероксидації (хімічної модифікації) білків плазми крові та різноманітних зрушень у системі антиоксидного захисту в печінці щурів.

2. 12-денне введення тваринам ербісолу (0,04 мл/кг) на фоні ЕОА викликає повне відновлення в печінці показників антиоксидного захисту (відновленого глутатіону, активності глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази та каталази).

3. Проведені експериментальні дослідження можуть слугувати передумовою клінічного застосування ербісолу у хворих на ОА та дозволяють передбачати можливі його репаратні і хондропротекторні властивості.

Таблиця 1 – Стан антиоксидного захисту печінки щурів за умов ЕОА та дії ербісолу і диклофенаку ($M \pm m$; $n=7$)

Показники Групи тварин	Відновлений глутатіон, мкмоль/г тканини	Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хв • мг білка	Глутатіон-S-трансфераза, мкмоль/хв • мг білка	Каталаза, мкмоль/хв • мг білка
1-а група	7,04±0,42	180,00±2,71	65,90±1,78	184,00±3,61
2-а група 7-й день 12-й день	6,04±0,39* 6,38±0,25*	233,00±4,55* 196,00±2,65*	43,30±1,12* 51,60±1,10*	258,00±6,69* 226,00±6,27*
3-я група 7-й день 12-й день	6,60±0,17 7,11±0,14	192,00±3,34* 178,00±4,20	54,30±1,02* 63,00±1,71	200,00±1,80* 189,00±3,04
4-а група 7-й день 12-й день	7,14±0,51 7,30±0,34	170,00±1,08* 168,00±2,08*	60,40±1,67* 67,20±1,35	216,00±6,04* 162,00±3,53*

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – різниця достовірна порівняно з тваринами контрольної групи ($p \leq 0,05$).

Таблиця 2 – Рівень окислювальної модифікації білків та вміст церулоплазміну в плазмі крові щурів за умов ЕОА та дії ербісолу і диклофенаку ($M \pm m$; $n=7$)

Показники Групи тварин	Рівень окислювальної модифікації білків, λE_{370} /г білка	Вміст церулоплазміну, λE_{530} /г білка
1-а група	36,30±2,51	81,40±3,65
2-а група 7-й день 12-й день	71,80±4,18* 54,70±3,37*	149,30±6,25* 126,30±5,32*
3-я група 7-й день 12-й день	43,40±2,82 36,70±2,35	84,00±4,23 74,30±5,82
4-а група 7-й день 12-й день	48,20±3,15* 35,30±2,08	101,70±5,14* 107,00±5,32*

ЛІТЕРАТУРА

1. Боднар П.М., Лопушенко Н.І. Клінічна оцінка ефективності препарату "Ербісол" при цукровому діабеті // Ендокринологія. – 1997. – **2**, №1. – С. 35-39.
2. Геруш І.В., Мещишен І.Ф. Стан глутатионової системи організму при дії спиртової настоянки ехінацеї пурпурової // Ліки. – 1998. – № 3. – С. 18-21.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы. // Лаб. дело. – 1998. – № 1. – С.13-15.
5. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буковинський медичний вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156-158.
6. Мещишен І.Ф., Давиденко І.С., Малкович Н.М. Пилок квітковий як профілактичний засіб медикаментозних уражень шлунка та печінки нестероїдними протизапальними препаратами в умовах експериментального моделювання остеоартрозу // Гастроентерологія. – 1999. – Вип. 29. – С. 152-156.
7. Мещишен І.Ф., Петрова І.В. Окисление и восстановление глутатиона в органах крыс при введении этония // Украинский биохимический журнал. – 1983. – **55**, № 5. – С.571-573.
8. Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окиснювальної модифікації білків // Буковинський медичний вісник. – 1999. – **3**, № 1. – С. 196-205.
9. Хлябич Г.Н., Смирнова Т.Ю., Васюков С.Е. и др. Мукосат – эффективное средство лечения артрозов // Вестник травматол. и ортопед. им. Н.Н. Приорова. – 1997. – № 4. – С. 27-30.
10. Aruoma O.I. Free-radical, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease // J. Amer. Oil Chem. Soc. – 1998. – **75**, № 2. – P. 199-212.

ВЛИЯНИЕ ЭРБИСОЛА НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗА

Л.Д. Борейко, И.Ф. Мещишен, А.Н. Николаенко
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

В условиях экспериментального остеоартроза (ЭОА) изучено влияние эрбисола на состояние антиоксидантной защиты организма крыс. Двенадцатидневное введение животным эрбисола (0,04 мл/кг) на фоне ЭОА вызвало полное восстановление в печени показателей антиоксидантной защиты (восстановленного глутатиона, активности глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, каталазы), нормализацию уровней окислительной модификации белков и церулоплазмينا в крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальный остеоартроз, эрбисол, восстановленный глутатион, антиоксидантные ферменты, церулоплазмин, окислительная модификация белков.

THE INFLUENCE OF ERBISOL ON THE STATE OF THE ORGANISM ANTIOXIDANT PROTECTION UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL OSTEOARTHRISIS

L.D. Boreiko, I.F. Meshchysheh, A.N. Nykolaienko
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The influence of erbisol on the state of the antioxidant protection of the rat's organism was studied under conditions of experimental osteoarthritis (EOA). A 12 day administration of erbisol (0,04 ml/kg) to the animals against a background of EOA caused a complete restoration of the indices of the antioxidant protection (reduced glutathione, activity of glutathion peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase), normalization of the levels of oxidative modification of blood protein and ceruloplasmine.

KEY WORDS: experimental osteoarthritis, erbisol, reduced glutathione, antioxidant enzymes, ceruloplasmine, oxidative protein modification.

Отримано 03.07.2000 р.

Адреса для листування: І.Ф. Мещишен, кафедра медичної хімії, пл. Театральна, 2, 27400, Чернівці, Україна.

ВМІСТ АДЕНІННУКЛЕОТИДІВ І ФОРМА ЕРИТРОЦИТІВ У КРОВІ ХВОРИХ, ОТРУЄНИХ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

Б.А. Локай, Є.М. Стародуб

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено вплив натрієвої солі бензилпеніциліну (Пен) на вміст аденіннуклеотидів і форму еритроцитів у крові хворих, отруєних блідою поганкою. Встановлено, що Пен стимулює біосинтез АТФ і зменшує відсоток змінених форм еритроцитів, зокрема дегенеративних.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: отруєння блідою поганкою, кров людини, аденіннуклеотиди, еритроцити.

ВСТУП. З усіх шапінкових отруйних грибів найбільш важкий клінічний перебіг із високою летальністю спричиняє бліда поганка (БП). Оскільки на сьогодні антидотів проти її отрути немає, в лікуванні людей використовують засоби симптоматичної і патогенетичної терапії, зокрема натрієву сіль бензилпеніциліну (Пен) [2, 4, 6]. Відомо, що між вмістом АТФ і формою еритроцитів існує певна залежність [10]. Дані про дію Пен на взаємоз'язках останніх у крові хворих, отруєних БП, відсутні.

Метою роботи було вивчення впливу Пен на біоенергетику та форму еритроцитів у крові людей, отруєних БП.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували кров 6 донорів (контроль) і 12 хворих із середньоважким перебігом отруєння БП. Хворі були поділені на 3 групи: 1-а отримувала базисне лікування; 2-а – додатково парентерально антибіотики (АБ) у добових дозах: або ампіцилін – 2-3 г, або оксацилін – 3 г, або Пен 6-10 млн. ОД; 3-я – базисне лікування і Пен у дозі 1 млн. ОД/кг маси тіла протягом 2-3 діб. Базисна терапія в період розпалу отруєння (РО) включала в себе детоксикацію, корекцію водно-електролітного балансу та кислотно-лужної рівноваги, зниження бактеріальної інтоксикації з кишечника, гепатопротекторну та симптоматичну терапію.

Концентрацію аденіннуклеотидів визначали з використанням реактивів “Boehringer Mannheim” (ФРН), неорганічного фосфору (НФ) – реактивів “Lachema” (Брно), енергетичний заряд (ЕЗ) розраховували за [11], ступінь фосфорування (СФ) – за [5]. Форму еритроцитів визначали за [1]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програми “Microsoft Excel”.

© Б.А. Локай, Є.М. Стародуб – д.м.н., проф., 2001.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Сума аденіннуклеотидів (САН) у крові донорів (контроль) становила $(645,27 \pm 33,62)$ мкмоль/л, у крові хворих у період РО складала від 39 до 42 % ($p < 0,001$), в період ранньої реконвалесценції (РР) – від 53 до 69 % ($p < 0,002$), порівняно з контролем. Відомо, що для нормального функціонування клітин суттєвим є не абсолютний вміст аденіннуклеотидів, а їх співвідношення [7]. У крові донорів цей показник складав 84:14:4, у період РО, залежно від виду терапії (базисна, базисна та АБ, базисна та Пен), співвідношення АТФ:АДФ:АМФ було 70:16:15, 68:20:12 і 66:17:17 відповідно, в період РР – 75:18:7, 77:16:7 і 80:17:3, тобто відбувалася зворотна ротація показників цих співвідношень.

У період РО сума АТФ і АДФ при базисній терапії зменшилася на 396,85 мкмоль/л, а вміст АМФ і НФ збільшився на 12,98 мкмоль/л і 0,85 ммоль/л, порівняно до контролю. При застосуванні базисної терапії з АБ вміст АТФ і АДФ знизився на 380,93 мкмоль/л, а АМФ зріс на 6,53 мкмоль/л, НФ – на 1,0 ммоль/л відповідно до контролю. Така динаміка спостерігалася і при використанні базисної терапії з Пен: зниження рівня АТФ і АДФ на 411,05 мкмоль/л при зростанні концентрації АМФ на 17,33 мкмоль/л і НФ на 0,68 ммоль/л. Таким чином, у період РО відбувається руйнація аденіннуклеотидів без ознак їх синтезу (табл. 1).

Аналіз даних, отриманих при вивченні енергетичного обміну в крові хворих, отруєних БП, у період РР свідчить про те, що при використанні базисної терапії концентрація АТФ і АДФ зросла на 120,03 мкмоль/л при зменшенні рівня АМФ на 14,03 мкмоль/л, порівняно з періодом РО. САН утворених аденіннуклеотидів збільшилася на 120,03 мкмоль/л, що при зниженні НФ вказує на

Таблиця 1 – Показники біоенергетики крові у хворих, отруєних блідою поганкою ($M \pm m$; $n=4-6$)

Показник і його норма	Вид терапії		
	Базисна	Базисна+АБ	Базисна+Пен
САН, (645,27±33,62) мкмоль/л	$\frac{261,23 \pm 62,69^*}{357,23 \pm 50,68^*}$	$\frac{270,70 \pm 81,50^*}{341,20 \pm 26,10^*}$	$\frac{251,38 \pm 62,54^*}{446,83 \pm 83,83^{*,**}}$
АТФ, (539,13±28,48) мкмоль/л	$\frac{181,60 \pm 62,99^*}{275,88 \pm 49,41^*}$	$\frac{183,48 \pm 67,18^*}{263,83 \pm 22,39^{*,**}}$	$\frac{165,25 \pm 55,24^*}{357,35 \pm 31,42^{*,**}}$
АДФ, (80,07±10,07) мкмоль/л	$\frac{40,75 \pm 7,34^*}{66,50 \pm 7,32}$	$\frac{54,80 \pm 16,10}{54,33 \pm 7,55}$	$\frac{42,90 \pm 11,06^*}{75,08 \pm 11,79}$
АМФ, (25,90±3,01) мкмоль/л	$\frac{38,88 \pm 6,85}{24,85 \pm 4,78}$	$\frac{32,43 \pm 2,78}{23,03 \pm 5,92}$	$\frac{43,23 \pm 5,85^*}{14,40 \pm 1,96^{*,**}}$
ЕЗ, 0,90±0,01	$\frac{0,71 \pm 0,09}{0,83 \pm 0,03}$	$\frac{0,72 \pm 0,07^*}{0,85 \pm 0,02}$	$\frac{0,69 \pm 0,07^*}{0,88 \pm 0,02^{**}}$
НФ, (0,82±0,02) ммоль/л	$\frac{1,67 \pm 0,20^*}{1,13 \pm 0,09^{*,**}}$	$\frac{1,81 \pm 0,20^*}{1,23 \pm 0,12^{*,**}}$	$\frac{1,40 \pm 0,16^*}{1,09 \pm 0,09^*}$
СФ, 8,94±1,14	$\frac{2,78 \pm 0,98^*}{3,91 \pm 0,79^*}$	$\frac{1,82 \pm 0,38^*}{4,23 \pm 0,85^{*,**}}$	$\frac{2,87 \pm 0,65^*}{4,96 \pm 1,03^*}$

Примітка. Тут і в наступній таблиці: числитель – період розпалу, знаменник – період реконвалесценції; * – $p \leq 0,05$, порівняно з контролем; ** – $p \leq 0,05$, порівняно з періодом розпалу.

активні процеси фосфорування. У хворих, при лікуванні яких використовували базисну терапію з АБ та Пен, також відмічалася зростання рівня АТФ і АДФ (на 79,89 і 224,28 мкмоль/л відповідно), зниження концентрації АМФ (на 9,39 і 28,83 мкмоль/л) і Фн (на 0,67 і 0,31 ммоль/л). Найактивніше процеси новоутворення аденіннуклеотидів проходять при використанні базисної терапії і Пен, складаючи 207 %, порівняно з періодом РО.

ЕЗ у період РО у всіх випадках складав тільки 77-80 % від контролю ($p < 0,05-0,02$), в період РР він зріс до рівня норми, що свідчить про інтенсифікацію синтезу АТФ [3]. СФ у період РО становив тільки 20-32 % від норми ($p < 0,01-0,001$), у період РР зріс і складав при базисному лікуванні 44 % відносно контролю ($p < 0,01$), 47 % ($p < 0,02$) – при лікуванні АБ і 55 % ($p < 0,05$) – при використанні Пен, тобто здатність клітин синтезувати АТФ з АДФ і НФ в останньому випадку значно зменшує токсичний вплив отрути БП на систему аденіннуклеотидів крові хворих.

Розпал захворювання характеризувався

Таблиця 2 – Форма еритроцитів у хворих, отруєних блідою поганкою, % ($M \pm m$; $n=4-6$)

Вид терапії	Дискоцити	Форма змінених еритроцитів			Усього змінених форм
		Зворотні		Незворотні	
		Стоматоцити	Ехіноцити		
Базисна	$\frac{93,35 \pm 0,15^*}{95,78 \pm 0,14^{*,**}}$	$\frac{1,88 \pm 0,09^*}{1,40 \pm 0,12^{**}}$	$\frac{3,75 \pm 0,23^*}{2,30 \pm 0,21^{*,**}}$	$\frac{1,03 \pm 0,13^*}{0,53 \pm 0,05^{*,**}}$	$\frac{6,65 \pm 0,15^*}{4,23 \pm 0,14^{*,**}}$
	$\frac{93,80 \pm 0,69^*}{96,43 \pm 0,19^{*,**}}$	$\frac{1,63 \pm 0,20}{1,37 \pm 0,09^{**}}$	$\frac{3,58 \pm 0,44^*}{1,70 \pm 0,36^{**}}$	$\frac{1,00 \pm 0,15^*}{0,50 \pm 0,10^{*,**}}$	$\frac{6,20 \pm 0,69^*}{3,57 \pm 0,19^{*,**}}$
Базисна + Пен	$\frac{93,48 \pm 0,82^*}{97,75 \pm 0,30^{**}}$	$\frac{1,93 \pm 0,19^*}{0,83 \pm 0,13^{**}}$	$\frac{3,38 \pm 0,55^*}{1,20 \pm 0,18^{**}}$	$\frac{1,23 \pm 0,15^*}{0,23 \pm 0,03^{*,**}}$	$\frac{6,53 \pm 0,82^*}{2,25 \pm 0,30^{**}}$
	Контроль	$\frac{97,80 \pm 0,09}{1,20 \pm 0,11}$	$\frac{0,90 \pm 0,10}{0,10 \pm 0,02}$		$\frac{2,20 \pm 0,09}{2,20 \pm 0,09}$

Помірну позитивну корелятивну залежність між вмістом АТФ і формою еритроцитів у РО відмічено в 1-й і 3-й групах хворих ($r=0,41$ і $r=0,39$), слабкий негативний зв'язок – у 2-й ($r=-0,18$). У період РР у всіх групах хворих між вмістом АТФ і формою змінених еритроцитів має місце високий ступінь від'ємної корелятивної залежності ($r=-0,69-0,90$).

ВИСНОВКИ. 1. У крові хворих, отруєних блідою поганкою, зменшується вміст адениннуклеотидів і зростає відсоток змінених форм еритроцитів.

2. Натрієва сіль бензилпеніциліну стимулює біосинтез АТФ і зменшує відсоток змінених форм еритроцитів, зокрема дегенеративних.

ЛІТЕРАТУРА

1. Иваненко Н.А. Морфология эритроцитов при лейкозах // Гематол. и трансфузиол. – 1989. – № 11. – С. 56-57.

2. Курапов Е.П., Минина К.З., Иващенко О.В. и др. Интенсивная терапия отравлений грибами и веществами, содержащимися в них // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 1 – С. 109-111.

3. Ленинджер А. Основы биохимии: Пер. с англ. – М.: Мир, 1985. – Т. 3. – 320 с.

4. Малыш И.Р., Макаруч В.А., Цепляев В.И. Алгоритмы дифференцированной интенсивной терапии пациентов с отравлением гепатотропными грибами // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 1 – С. 128-130.

5. Мецлер Д. Биохимия. Биохимические реакции в живой клетке: Пер. с англ. – М.: Мир, 1980. – Т. 3. – 488 с.

6. Митник З.М., Волошинський О.В., Легун О.В. Організація спеціалізованої допомоги при отруєннях грибами // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 1 (д). – С. 124-125.

7. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма: Пер. с англ. – М.: Мир, 1977. – 407 с.

8. Рихтер Т.Я., Грингауз О.К., Соколов О.И. Выявление и характер мечения F-актина маркером фаллоидин-коллоидное золото // Цитология. – 1990. – № 11. – С. 1114-1119.

9. Страйер Л. Биохимия: Пер. с англ. – М.: Мир, 1985. – Т. 2. – 312 с.

10. Фултон А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки: Пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – 120 с.

11. Atkinson D.E. The energy charge of the adenilate pool as a regulatory parameter // Biochemistry. – 1968. – № 8. – P. 4030-4034.

СОДЕРЖАНИЕ АДЕНИННУКЛЕОТИДОВ И ФОРМА ЭРИТРОЦИТОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ, ОТРАВЛЕННЫХ БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ

Б.А. Локай, Е.М. Стародуб

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучено влияние натриевой соли бензилпенициллина (Пен) на содержание адениннуклеотидов и форму эритроцитов в крови больных, отравленных бледной поганкой. Установлено, что Пен стимулирует биосинтез АТФ и уменьшает процент измененных форм эритроцитов, в частности дегенеративных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **отравление бледной поганкой, кровь человека, адениннуклеотиды, эритроциты.**

THE CONTENTS OF ADENINE NUCLEOTIDES AND FORM OF ERYTHROCYTES IN BLOOD OF THE PATIENTS WITH AMANITA PHALLOIDES POISONING

B.A. Lokai, Ye.M. Starodub

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The influence of penicillin-G on the contents and form of erythrocytes in blood of the patients with Amanita phalloides poisoning was investigated. Penicillin-G was found to stimulate a biosynthesis of ATP and reduce percent of the changed forms of erythrocytes, including degenerative forms.

KEY WORDS: **Amanita phalloides poisoning, human blood, adenine nucleotides, erythrocytes.**

Отримано 21.12.2000 р.

Адреса для листування: Б.А. Локай, кафедра терапії ФПО, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, 46001, Тернопіль, Україна.

ГАЗОХРОМАТОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ ЛІПІДІВ КРИШТАЛИКІВ ТА СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ВІКОВІЙ КАТАРАКТІ

О.В. Яценко¹, Т.С. Брюзгіна, Н.В. Фартушок²

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ
МІСЬКА КЛІНІКА "ЦЕНТР МІКРОХІРУРГІЇ ОКА", КИЇВ¹

ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО²

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного спектра ліпідів кришталіків і сироватки крові при віковій катаракті у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) та інсулінозалежний цукровий діабет.

Проведені дослідження дозволили встановити, що наявність соматичних захворювань можна розглядати як чинник ризику у виникненні і розвитку катаракти.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, жирні кислоти, перекисне окислення ліпідів, вікова катаракта.

ВСТУП. Ліпіди займають основне місце в забезпеченні функцій мембран і визначають їхню в'язкість. Відома подвійна роль ліпідів у біологічних мембранах: вони, з одного боку, підтримують строго визначену структуру мембран, з іншого – забезпечують стабільність їхніх властивостей і швидкої реакції клітини на зміни в організмі [4].

Пошкодження біологічних мембран спостерігається при різноманітних патологічних процесах [5]. Серед ендогенних чинників, що ушкоджують мембрани, найбільш важливим є процес перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [2, 3]. Саме він визначає напрямок і глибину змін ліпідів тканин при патологічних процесах [6] і розглядається в ролі конкретного молекулярного механізму, що ушкоджує біомембрани при віковій катаракті.

Відомо [1], що процес перекисного окислення ліпідів супроводжує розвиток різноманітних видів катаракт, причому активація процесу пов'язується з присутністю в тканинах поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) [2].

Оскільки вищі жирні кислоти (ЖК) є структурними елементами біологічних мембран і одночасно служать основними субстратами процесу вільнорадикального окислення, то якісні й кількісні зміни останніх можуть бути інформативним тестом у клінічній і лабораторній діагностиці.

© О.В. Яценко – к.т.н., Т.С. Брюзгіна – к.т.н., Н.В. Фартушок, 2001.

Метою цього дослідження є вивчення патохімічних змін у кришталіку і сироватці крові хворих на вікову катаракту при ІХС та інсулінозалежному цукровому діабеті методом газорідної хроматографії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 32 хворих на катаракту віком від 55 до 75 років із ІХС і 17 хворих на катаракту віком від 37 до 45 років із інсулінозалежним цукровим діабетом. Контрольну групу становили пацієнти цього ж віку без клінічних проявів катаракти. Усім хворим проведено традиційні дослідження: визначення гостроти зору, біомікроскопію, тонометрію. Хворі оглянуті суміжними спеціалістами.

Кришталіки контрольної групи отримано з донорського матеріалу. Кришталіки основної групи одержано під час екстракції катаракти.

Газохроматографічний аналіз проводили за методикою [7].

У спектрі жирних кислот (ЖК) ліпідів ідентифікували п'ять найбільш інформативних ЖК: пальмітинову, стеаринову, олеїнову, лінолеву, арахідонову. Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з піками стандартних ЖК. Кількісну оцінку проводили шляхом вимірювання площ піків метильованих похідних ЖК і визначення їх вмісту у відсотках.

Визначали суму насичених, ненасичених і ПНЖК. Отримані результати опрацьовували методом варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента.

Таблиця 1 – **Зміна жирнокислотного складу ліпідів кришталика і сироватки крові при катаракті у хворих на ІХС, % (M±m)**

Назва ЖК	Кришталик		Сироватка	
	Контроль	ІХС+катаракта	Контроль	ІХС+катаракта
C _{16:0} , пальмітинова	6,2±0,7	13,1±0,8*	34,4±0,5	42,7±1,5*
C _{18:0} , стеаринова	3,4±0,5	7,2±1,1*	16,7±1,3	15,0±1,5
C _{18:1} , олеїнова	6,8±0,6	9,6±1,5*	19,8±1,3	24,7±1,4*
C _{18:2} , лінолева	0,6±0,2	1,6±0,5*	20,8±1,9	11,9±1,4*
C _{20:4} , арахідонова	0,20±0,05	0,6±0,2*	8,1±,3	5,7±0,9*
C _{20:5,6} , полієнові	4,6±0,8	1,5±0,3*	-	-
C _{22:4,6} , полієнові	78,2±1,0	66,4±4,6*	-	-
Сума насичених ЖК	9,6±1,1	20,3±1,9*	51,1±3,1	57,7±2,2
Сума ненасичених ЖК	90,4±1,1	79,7±1,9*	48,9 ± 3,1	42,3±2,2*
Сума ПНЖК	83,6±1,3	70,1±3,4*	29,0±0,7	17,6±1,2*

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – зміни достовірні порівняно з контролем (p<0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З наведених у таблиці 1 даних видно, що у співвідношенні насичених і ненасичених ЖК як кришталика, так і сироватки крові при ішемічній хворобі серця спостерігаються достовірні однонаправлені зміни жирнокислотного складу ліпідів, що полягають у підвищенні насиченості ліпідного комплексу кришталика і сироватки крові за рахунок достовірного збільшення вмісту пальмітинової ЖК. Зниження ненасиченості ліпідів кришталика і сироватки крові при ІХС зумовлено достовірним зменшенням суми ПНЖК.

Такий стан жирнокислотного спектра ліпідів у кришталику і сироватці крові при ІХС може свідчити про активацію процесу ліпідної пероксидації, бути причиною розвитку патологічного стану і призводити до розвитку катаракти.

При порівнянні результатів жирнокислотного складу ліпідів кришталика і сироватки крові можна відзначити відмінні риси: у сироватці крові при ІХС достовірне зменшення вмісту лінолевої й арахідонової ЖК, очевидно, є результатом активації ПОЛ, а в кришталику на тлі зниженого рівня ПНЖК достовірно збільшувався вміст лінолевої й арахідонової ЖК, що може бути зумовлено порушенням метаболізму есенціальних ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів, що також зумовлюється активацією процесу ліпідної пероксидації.

Як свідчать дані, наведені в таблиці 2, при цукровому діабеті й у сироватці крові, й у кришталику жирнокислотний склад ліпідів має тенденцію до росту ненасиченості ліпідного комплексу.

ВИСНОВОК. ІХС і цукровий діабет, однією з причин яких є активація процесу ліпідної пероксидації, можна розглядати як чинники ризику виникнення і розвитку катаракти.

Таблиця 2 – **Зміна жирнокислотного складу ліпідів кришталика і сироватки крові при катаракті у хворих на цукровий діабет, % (M±m)**

Назва ЖК	Кришталик		Сироватка	
	Контроль	Цукровий діабет+ катаракта	Контроль	Цукровий діабет+ катаракта
C _{16:0} , пальмітинова	26,1±1,2	24,0±1,7	42,3±0,8	34,0±1,9*
C _{18:0} , стеаринова	13,1±2,8	8,6±1,3*	19,3± 1,0	24,1±1,5*
C _{18:1} , олеїнова	22,5±0,9	12,0±1,4*	20,8±0,9	26,2±0,7*
C _{18:2} , лінолева	0,80±0,01	3,5±0,2*	14,0±0,7	7,4±1,0*
C _{20:4} , арахідонова	4,4±0,3	4,9±0,6	3,6±0,0	8,4±0,8*
C _{20:5,6} , полієнові	2,7±0,1	1,8±0,1*	-	-
C _{22:4,6} , полієнові	30,4±2,9	45,2±2,4*	-	-
Сума насичених ЖК	39,2±2,8	32,6±3,7	61,6±1,2	58,0±1,3*
Сума ненасичених ЖК	60,8±2,8	67,4±3,7	38,4 ± 1,2	42,0±1,4*
Сума ПНЖК	38,3±2,0	55,4±3,5*	17,6±0,8	15,6±1,2

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреев А.Н. Офтальмо-гигиеническое изучение причинно-следственных связей возрастной катаракты с биохимическими факторами // Офтальмол. журнал. – 1992. – № 3. – С. 167-170.
2. Бабижаев М.А., Линберг Л.Ф. Доказательство окисления ненасыщенных жирных кислот при катаракте // Биохим. – 1986. – **51**, № 10. – С. 1702.
3. Бабижаев М.А., Шведова А.А., Архипенко Ю.В., Каган Е.Е. Накопление продуктов перекисного окисления липидов в хрусталике при катаракте // Бюлл. эксперим. биол. – 1985. – **102**, № 9. – С. 299-301.
4. Бурлакова Е.В., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Усп. химии. – 1985. – **54**, № 99. – С. 1540-1558.
5. Дайхин Е.И. Биохимическая структура и функции базальных мембран (обзор литературы) // Вопр. мед. химии. – 1985. – № 1. – С. 23-32.
6. Децина А.Н., Бачинский А.Г. Оценка склонности липидов к перекисному окислению при неблагоприятных воздействиях на организм // Вопр. мед. химии. – 1990. – **36**, № 3. – С. 18-20.
7. Яценко О.В., Брюзгина Т.С. Газохроматографический анализ жирнокислотного спектра липидов и уровня свободного холестерина в хрусталике глаза: Информационное письмо. – К., 1995. – 2 с.

ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛИПИДОВ ХРУСТАЛИКОВ И СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТЕ

О.В. Яценко¹, Т.С. Брюзгина, Н.В. Фартушок²

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ
ГОРОДСКАЯ КЛИНИКА "ЦЕНТР МИКРОХИРУГИИ ГЛАЗА", КИЕВ¹

ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО²

Резюме

Приведены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного спектра липидов хрусталиков и сыворотки крови при возрастной катаракте у больных ишемической болезнью сердца и инсулинозависимым сахарным диабетом.

Проведенные исследования позволили установить, что наличие соматических заболеваний можно рассматривать как фактор риска в возникновении и развитии катаракты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, жирные кислоты, перекисное окисление липидов, возрастная катаракта.

GAS-CHROMATOGRAPHIC TEST OF LENSES AND BLOOD SERUM LIPIDS AT AGE CATARACT

O.V. Yatsenko¹, T.S. Bryuzgina, N.V. Fartushok²

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS, KYIV
CITY CLINIC "CENTER OF THE EYES MICROSURGERY", KYIV¹

LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The results of the gas-chromatographic test of fat acid spectrum lipid of the lens and blood serum at the age cataract in the patients suffering from ischaemic heart disease and insulin dependent diabetes mellitus are displayed.

The investigations made a possibility to determine that existence of somatic diseases could be consider as a risk factor in cataract appearing and developing.

Отримано 30.10.2000 р.

Адреса для листування: Т.С. Брюзгіна, вул. Крейсера Аврори, 1/21, 03191, Київ, Україна.

ВПЛИВ ІНТЕРВАЛЬНИХ ГІПОКСИЧНИХ ТРЕНУВАНЬ НА АНТИОКСИДНУ СИСТЕМУ І ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ ДІЇ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ І ДОНОРА ОКСИДУ АЗОТУ

Н.М. Кургалюк, Т.В. Серебровська¹

Львівський національний університет ім. І.Я. Франка
Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ¹

Вивчено зміни системи антиоксидного захисту (АОЗ), перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), співвідношення вмісту медіаторних речовин у крові щурів за умов гострої гіпоксії, інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) та парентерального введення донора оксиду азоту L-аргініну і блокатора NOS L-NNA. Встановлено, що ІГТ при гострій гіпоксії (7 % кисню в азоті) зумовлюють активацію АОЗ та пригнічення процесів ПОЛ на фоні посилення холінергічної ланки регуляції організму. Донор оксиду азоту за цих умов викликає протекторну антигіпоксичну дію, яка нівелюється при введенні блокатора NOS.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гостра гіпоксія, інтервальні гіпоксичні тренування, оксид азоту, L-аргінін, L-NNA, ацетилхолін, антиоксидний захист, перекисне окислення ліпідів.

ВСТУП. Фізіологічне узагальнення методу підвищення неспецифічної резистентності організму і функціонального резерву міокарда методом інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) значною мірою пов'язане з активацією процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і підвищенням буферної ємності антирадикальної системи. Ефекти кисневої нестачі й реоксигенації, які включає в себе метод ІГТ, для різних тканин і клітин є неоднозначними. Відомо ряд елементів метаболічного і сигнального каскаду, що запускаються під час ІГТ: залізовмісні компоненти, мембранна провідність, кальцієвий гомеостаз тощо. Викликані гіпоксією зміни рівня вільного кальцію тісно пов'язані зі змінами мітохондріальної функції, сигнальної передачі, секрецією медіаторних речовин і регуляцією експресії генів. Встановлено, що механізми передачі сигналу оксиду азоту (NO) мають важливе значення для функціонування судин при фізіологічних і патофізіологічних станах, викликаючи зміни тканинного дихання й енергозабезпечення. Однак роль донорів оксиду азоту і використання блокаторів NO-синтази (NOS) у процесі ІГТ не з'ясовано. Це було метою нашого дослідження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на 35 щурах-самцях лінії Вістар масою 0,20-0,22 кг, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Тварин поділили на 5 груп по 7 у кожній. І групу

складали інтактні щури, яким перед дослідом вводили 1 мл фізіологічного розчину. II групу тварин поміщали в обладнану камеру, яка вентильовалась сумішшю 7 % кисню в азоті. З метою поглинання вуглекислого газу і водяних парів у камері застосовували адсорбент. Перед дослідом цій групі щурів вводили 1 мл 0,9 % NaCl. Три інших групи використовували в досліді після курсу 14-денних ІГТ. Він включав у себе 15-хвилинне перебування кожної з груп тварин у камері, яка вентильовалась сумішшю 10 % кисню в азоті, з наступним 15-хвилинним диханням щурів атмосферним повітрям. Такі цикли повторювали п'ять разів щоденно для кожної групи. Цим щурам за 30 хв до експерименту щоденно парентерально вводили 1 мл фізіологічного розчину – (III група), 600 мг/кг L-аргініну внутрішньочеревинно (фірма "Sigma", США) – IV група, 35 мг/кг блокатора синтази оксиду азоту N^o-мометилу L-аргініну L-NNA внутрішньочеревинно (фірма "Sigma", США) – V група. Усі групи тварин (крім інтактних) знаходились за гіпоксичних умов (7 % кисню в азоті) у камері впродовж 30 хв, після чого їх декапітували під ефірним наркозом.

Досліджували активність супероксиддисмутази (СОД) методом [4], каталази (КАТ) [3], концентрацію малонового діальдегіду (МДА) [2] і церулоплазміну (ЦП) [1]. Вміст медіаторних речовин у крові й тканинах визначали: ацетилхоліну (АХ) – згідно з методом [7], адреналіноподібних речовин (АР) – [6] та загальну холінергічну (ХЕ) активність – [5]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи критерій Ст'юдента.

© Н.М. Кургалюк, Т.В. Серебровська, 2001.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Кількість кисню, яка надходить у клітини організму і розподіляється між оксидазними й оксигеназними реакціями чітко регулюється залежно від потреб. Формується прооксидно-антиоксидна рівновага між продукцією активних кисневих метаболітів і перетворенням їх багаторівневою системою захисту. Гостра гіпоксія, як показали наші дослідження, порушує цю рівновагу і супроводжується різким достовірним зростанням у крові щурів активності СОД на 41,57 %, $p < 0,05$), підвищенням концентрації церулоплазміну та активацією процесів ПОЛ, яке оцінювали за нагромадженням малонового діальдегіду (МДА), вміст якого збільшився вдвічі. Ці зміни спостерігалися на фоні достовірного зниження активності КАТ (на 28 %, $p < 0,01$). Результати досліджень наведено в таблиці 1.

Одним із перспективних напрямів захисту організму за екстремальних умов є поєднання посилення власних адаптивних можливостей організму з ефективною фармакологічною корекцією. Адаптація до гіпоксії широко використовується в медичній практиці з метою лікування патологій серцево-судинної системи. Велика роль за цих умов відводиться неперервній гірській гіпоксії, гіпобаричній барокамерній гіпоксії і, насамкінець, інтервальної гіпоксичній гіпоксії. Основна відмінність останньої полягає в тому, що при переривчастій гіпоксії існують періоди реоксигенації, коли організм повертається до нормального тиску або вмісту кисню у вдихуваній суміші після кожного гіпоксичного навантаження.

У щурів після курсу 14-денних ІГТ за умов дії гострої гіпоксії встановлено зростання на 29,7 % активності СОД, нормалізацію КАТ із зменшенням вмісту МДА. Ці зміни супроводжувалися зниженням вмісту ЦП. Таким чином, ІГТ попереджують активацію ПОЛ при збільшенні потужності антиоксидної системи.

Формування захисних ефектів адаптації до дії екстремальних чинників, які супроводжуються гіпоксійними станами, привернуло увагу до оксиду азоту. Він синтезується в організмі з L-аргініну за участю ферменту NOS. Ми вирішили поєднати ефекти впливу ІГТ із посиленням механізмів NO-регуляції при щоденному двотижневому внутрішньочеревному введенні донора NO-груп L-аргініну і блокатора NOS L-NNA.

Основні ефекти ІГТ при введенні L-аргініну пов'язані із зниженням активності СОД та підвищенням активності КАТ. Уваги заслуговує факт зменшення вмісту продуктів ПОЛ до рівня значень у інтактних тварин. Парентеральне введення блокатора NOS L-NNA зумовило зростання активності СОД, зниження активності КАТ і вмісту ЦП на фоні зростання концентрації продуктів ПОЛ.

Таким чином, як ІГТ, так і посилення ролі NO-ергічної ланки регуляції введенням L-аргініну, можуть відігравати протекторну антиоксидну роль за умов гострої гіпоксії.

Гіпоксія супроводжується значним нагромадженням АХ (234,4 %, $p < 0,05$) і АР (186,15 % $p < 0,01$) у крові нетренованих щурів з одночасним зростанням ХЕ активності. За аналогічних умов у ІГТ тварин встановлено зниження концентрації АХ до 48,3 %, нагромадження АР при достовірному підвищенні ХЕ активності стосовно щурів, які не адаптувалися до ІГТ. Щоденне введення донора оксиду азоту ІГТ щурам супроводжується підвищенням їх холінергічного статусу, оскільки викликає за умов значного стресорного навантаження достовірне нагромадження у крові неmediate-торного АХ (142,15 %, $p < 0,05$), значне пригнічення ХЕ активності й зменшення вмісту АР майже вдвічі стосовно тварин, яким препарат не вводили. Ефекти дії блокатора синтази оксиду азоту наближувалися до значень у ІГТ щурів.

Таблиця 1 – **Зміни показників активності системи антиоксидного захисту і перекисного окислення ліпідів за умов гострої гіпоксії, інтервальних гіпоксичних тренувань на фоні введення донора NO-груп L-аргініну і блокатора NOS L-NNA**

Умови досліджу	Супероксид-дисмутаза, од. акт/мг·хв	Каталаза, мкМ/хв·л	Малоновый діальдегід, нмоль/л	Концентрація церулоплазміну, мг %
Контроль	219,74 ± 7,28	124,39 ± 5,25	2,24 ± 0,18	18,01 ± 0,31
Гостра гіпоксія	311,1 ± 14,31*	89,79 ± 5,90*	4,71 ± 0,16*	20,07 ± 0,22*
Інтервальні гіпоксичні тренування	403,66 ± 7,76*	134,47 ± 9,53	3,19 ± 0,42*	15,72 ± 1,09
Інтервальні гіпоксичні тренування + L-аргінін	145,18 ± 7,57*	151,20 ± 3,30*	2,11 ± 0,16*	30,20 ± 3,12*
Інтервальні гіпоксичні тренування + L-NNA	453,36 ± 8,06*	104,53 ± 4,48*	3,05 ± 0,12*	17,85 ± 1,83

Примітка. * – статистично достовірна різниця щодо контролю ($p < 0,05$).

ВИСНОВОК. Ефект NO за умов гострої гіпоксії і ІГТ пов'язаний з посиленням ролі холінергічної ланки регуляції, зумовленої зростанням концентрації АХ на фоні достовірного зни-

ження активності ферменту його гідролізу, обмеженням продукції катехоламінів, що дозволяє пролонгувати дію його немедіаторної частини, й участю в антиоксидних адаптивних реакціях.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бестужева С.В., Колб В.Г. Определение церулоплазмينا в сыворотке крови модифицированным методом Ревина // В кн.: Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – С. 219-220.
2. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.П., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. химии. – 1987. – **33**, № 1. – С. 118-122.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб.

дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
4. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.И. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. – 1990. – **45**, № 2. – С. 88-91.
5. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 225-227.
6. Осинская В.О. Исследование обмена адреналина и норадреналина в тканях животного организма // Биохимия. – 1957. – **22**, № 3. – С. 537-545.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРВАЛЬНЫХ ГИПОКСИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК НА АНТИОКСИДНУЮ СИСТЕМУ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ И ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА

Н.Н. Кургалюк, Т.В. Серебровская¹
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.Я. ФРАНКО
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ¹

Резюме

Изучено изменения системы антиоксидантной защиты (АОЗ), перекисного окисления липидов (ПОЛ), соотношения содержания медиаторных веществ в крови крыс в условиях острой гипоксии, интервальных гипоксических тренировок (ИГТ), парентерального введения донора оксида азота L-аргинина и блокатора NOS L-NNA. Установлено, что ИГТ при острой гипоксии (7 % кислорода в азоте) обуславливают активацию АОЗ и угнетение процессов ПОЛ на фоне усиления холинергического звена регуляции организма. Донор оксида азота в этих условиях вызывает протекторное антигипоксическое действие, которое нивелируется при введении блокатора NOS.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острая гипоксия, интервальные гипоксические тренировки, оксид азота, L-аргинин, L-NNA, ацетилхолин, антиоксидантная защита, перекисное окисление липидов.

THE INFLUENCE OF INTERMITTENT HYPOXIA ON ANTIOXIDANT SYSTEM, LIPID PEROXIDATION AT ACUTE HYPOXIA AND DONOR NITRIC OXIDE EFFECT

N.M. Kurhalyuk, T.V. Serebrovskaya
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY I.Ya. FRANKO
INSTITUTE OF PHYSIOLOGY BY O.O. BOHOMOLETZ OF NAS OF UKRAINE, KYIV¹

Summary

The activity of antioxidant enzymes (AO) and lipid peroxidation (LP) in blood has been studied in the experiment with white rats under acute hypoxia, which had been carried by intermittent hypoxia (IH), nitric oxide donor by L-arginine and NO-synthase inhibitor L-NNA influence. The research proves the use IH rats results in the significant increase of AO and decrease of LP in blood. The use of L-arginine and IH simultaneously are more effective in these conditions. Effects of donor nitric oxide influence on AO, LP and mediators concentration remove NO-synthase inhibitor L-NNA.

KEY WORDS: antioxidant protection, lipid peroxidation, intermittent hypoxia, L-arginine, nitric oxide, acute hypoxia, L-NNA, acetylcholine.

Отримано 16.10.2000 р.

Адреса для листування: Н.М. Кургалюк, кафедра фізіології людини і тварин, біологічний факультет, Львівський національний університет ім. І.Я. Франка, вул Грушевського, 4, 79005, Львів, Україна.

МЕДИКАМЕНТОЗНА КОРЕКЦІЯ ВМІСТУ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ ТА ФАГОЦИТАРНОЇ АКТИВНОСТІ ЛЕЙКОЦИТІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ КОЛІТІ

С.М. Андрейчин

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧОВСЬКОГО

Дослідження проводили на білих щурах-самцях. Експериментальний коліт викликали за допомогою молочної кислоти й етанолу. Він супроводжувався збільшенням кількості ЦІК і зменшенням фагоцитарної активності лейкоцитів. Після ректального обпилення силардом П і внутрішньом'язового введення тималіну відмічали суттєве зниження рівня ЦІК у сироватці крові й нормалізацію показників фагоцитозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний коліт, ЦІК, фагоцитарна активність лейкоцитів, силард П, колоносорбція.

ВСТУП. Проблемі лікування хворих на хронічний коліт протягом останніх років присвячено ряд робіт [3, 6]. Основну увагу приділено розгляду патогенетичних засобів різного спрямування, однак потребує дослідження їх вплив на імунну систему.

Метою дослідження було вивчити особливості впливу різних методів лікування на показники імунних комплексів і фагоцитарної активності лейкоцитів при хронічному невиразковому коліті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих щурах-самцях з масою тіла 203-218 г. Експериментальний коліт викликали введенням в їх пряму кишку молочної кислоти в дозі 1,8 моль/л/кг з додатковим введенням в міжм'язове нервово сплетення прямої кишки 20 % етанолу, приготовленого на 0,5 % розчині новокаїну. Розчин етанолу вводили тільки один раз у дозі 2,0 мл/кг на відстані 3-4 см від зовнішнього анального сфінктера, а молочну кислоту – протягом 3-х тижнів. Тварин виводили з експерименту швидкою декапітацією.

Щурів було розділено на 9 груп по 11 тварин у кожній. До першої групи ввійшли інтактні тварини, до другої – ті щури, яким вводили в пряму кишку фізіологічний розчин хлориду натрію, до третьої – щури з експериментальним хронічним колітом, до четвертої – з колітом, який коригували внутрішньошлунковим введенням силарду П у дозі 0,3 г/кг, до п'ятої – тварини із вказаною патологією, яку коригували введенням силарду П у пряму

кишку, шосту групу становили тварини з експериментальним колітом, коригованим внутрішньом'язовим введенням тималіну в дозі 20 мг/кг, сьому – щури з колітом, яким вводили внутрішньочеревно альфа-токоферол у дозі 15 мг/кг, восьму – щури з хронічним колітом, які отримували колоносорбцію і тималін у комбінації, дев'яту – тварини з колітом, який коригували поєднаним введенням ентеросорбенту ректально та тималіну внутрішньом'язово у вказаних дозах і альфа-токоферолу внутрішньочеревно. Курс лікування в усіх групах тривав 7-10 днів.

Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) визначали за методом А.Н. Боцвадзе, фагоцитарну активність лейкоцитів – фагоцитарне число (ФЧ) і відсоток фагоцитувальних лейкоцитів (%ФЛ) – з використанням лабораторного штаму *Staphilococcus* № 209.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз даних (табл. 1) показав, що в піддослідних тварин з експериментальним колітом суттєво зростав рівень ЦІК ($p < 0,001$) та зменшувалися ФЧ ($p < 0,05$) і %ФЛ ($p < 0,05$).

Збільшення кількості ЦІК при запальних процесах товстої кишки свідчать про пошкодження цього органа [5]. При відкладанні ЦІК у слизовій або підслизовій оболонці товстої кишки активується система комплементу, яка індукує комплементзалежну цитотоксичність лімфоцитів. Ряд дослідників вказує на існування певної залежності між кількістю ЦІК і тяжкістю патологічного процесу [4].

На нашу думку, факт різкого зниження

© С.М. Андрейчин – к.м.н., 2001.

Таблиця 1 – Динаміка імунологічних показників у білих щурів з експериментальним колітом ($M \pm m$; $n=11$)

Показник	Групи тварин								
	Перша	Друга	Третя	Четверта	П'ята	Шоста	Сьома	Восьма	Дев'ята
ЦІК, у.о.	37,030± 0,660	36,972± 0,690	58,610± 0,720***	49,150± 0,630**	40,260± 0,660*	40,110± 0,690*	51,230± 0,630**	39,950± 0,681*	39,180± 0,717*
ФЧ	3,264± 0,060	3,258± 0,063	2,814± 0,069*	3,046± 0,057*	3,106± 0,054	3,124± 0,051	3,108± 0,057	3,150± 0,057	3,196± 0,054
%ФЛ	31,920± 0,570	32,010± 0,582	28,612± 0,603*	29,107± 0,591*	30,523± 0,612	30,580± 0,606	28,930± 0,582*	30,733± 0,591	31,104± 0,609

Примітка. Зірочками позначено величини, що статистично достовірно відрізняються від контрольних (* – $<0,05$; ** – $<0,01$; *** – $<0,001$).

фагоцитарної активності лейкоцитів у щурів з експериментальним колітом свідчить про можливість елімінації ЦІК, накопичення яких може поглибити деструктивні явища в стінці товстої кишки.

Після введення силарду П внутрішньо-шлунково та альфа-токоферолу внутрішньо-черевно поліпшення були несуттєвими. Найкращий ефект отримано після застосування колоносорбції силардом П (п'ята група), тималіном (шоста) та їх комбінацією (восьма). Так, кількість ЦІК у лікованих колоносорбцією знизилась до $40,260 \pm 0,660$ ($p < 0,05$), нормалізувалися також ФЧ і %ФЛ. Лікування альфа-токоферолом у комбінації з колоносорбцією і тималіном не призводило до подальшого поліпшення показників.

Отриманий результат, мабуть, зумовлений позитивним впливом силарду П і тималіну на структуру слизової оболонки товстої кишки [2] і вмістом у ній клітин – продуцентів імуноглобулінів органа [1].

ВИСНОВКИ. 1. Експериментальний хронічний коліт у щурів, викликаний за допомогою молочної кислоти й етанолу, супроводжувався суттєвим збільшенням кількості ЦІК у сироватці крові й зменшенням фагоцитарної активності лейкоцитів.

2. Під впливом силарду П (ректальне обпилення) і тималіну (внутрішньом'язове введення) зменшувалась кількість ЦІК і нормалізувалася фагоцитарна активність лейкоцитів. Корекції цих імунологічних показників за допомогою альфа-токоферолу не виявлено.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин С.М. Вплив різних методів лікування на місцевий і загальний імунітет при хронічному коліті // Вісн. наук. досл. – 1999. – № 2. – С. 67-68.
2. Андрейчин С.М. Медикаментозна корекція структурних змін товстої кишки при хронічному невиразковому коліті // Шпит. хір. – 2000. – № 2. – С. 94-96.
3. Златкина А.Р. Хронический колит // Клини. мед. – 1999. – № 7. – С. 59-62.
4. Канищев П.А. Роль циркулирующих иммун-

ных комплексов в развитии болезней печени // Гастроэнтерол. – 1990. – Вып. 22. – С. 32-34.

5. Хазенсон Л.Б., Чайка Н.А. Иммунологические основы диагностики и эпидемиологического анализа кишечных инфекций. – М.: Медицина, 1987. – 112 с.

6. Хворосткин В.М., Федоров В.О. Эффективность синглетно-кисневої терапії в комплексному лікуванні хворих на хронічний ентероколіт // Врач. практика. – 2000. – № 3. – С. 68-70

МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ И ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ КОЛИТЕ

С.М. Андрейчин

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Исследования проводили на белых крысах-самцах. Экспериментальный колит вызывали с помощью молочной кислоты и этанола. Он сопровождался увеличением количества ЦИК и уменьшением

фагоцитарної активності лейкоцитів. Після ректального опилчення силлардом П і внутрим'язцевого введення тималина помічали суттєве зниження вмісту ЦИК в сировотці крові і нормалізацію показателів фагоцитоза.

КЛЮЧЕВІ СЛОВА: **хронічний коліт, ЦИК, фагоцитарна активність лейкоцитів, силлард П, колоносорбція.**

MEDICAMENTOUS CORRECTION OF CONTENT OF IMMUNE COMPLEXES AND PHAGOCYtic ACTIVITY OF LEUKOCYTES AT CHRONIC COLITIS

S.M. Andreichyn

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

White rats-males have been investigated. Experimental colitis was caused by lactic acid and ethanol. It was accompanied by increasing of quantity of circulating immune complexes (CIC) and decreasing of phagocytic activity of leukocytes. After rectal spraying with Sillardum-P and intramuscular administration of Thymalin was marked significant lowering of CIC content in blood serum and normalization of phagocytic indices.

KEY WORDS: **chronic colitis, circulating immune complexes (CIC), phagocytic activity of leukocytes, Sillardum – P, colonosorption.**

Отримано 19.02.2001 р.

Адреса для листування: С.М. Андрейчин, кафедра пропедевтичної терапії, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, 46001, Тернопіль, Україна.

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ХВОРИХ, ЯКІ ПОТРЕБУЮТЬ ОПЕРАТИВНИХ ВТРУЧАНЬ ІЗ ПРИВОДУ ЖОВЧНОКАМ'ЯНОЇ ХВОРОБИ

В.Г. Мішалов, Т.С. Брюзгіна, І.І. Теслюк
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

У статті наведено результати біохімічних аналізів крові 35 осіб із жовчнокам'яною хворобою перед оперативним втручанням. У сироватці крові методом газової хроматографії визначали спектр вищих жирних кислот ліпідів сироватки крові та рівень вільного холестерину. Найсуттєвіші зміни вивчених показників виявлено у хворих на гнійний холангіт. Показано можливість застосування методики для оцінки глибини патологічного процесу у хворих на жовчнокам'яну хворобу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: жовчнокам'яна хвороба, гнійний холангіт, жирні кислоти ліпідів сироватки крові.

ВСТУП. Однією з функцій гепатобілярної системи є участь у синтезі та катаболізмі ліпідів і білкових компонентів ліпопротеїнів. Запальні процеси в гепатобілярній зоні призводять до більш чи менш виражених порушень функції печінки та жовчовивідних шляхів і супроводжуються змінами показників ліпідного обміну [1, 2]. Діагностика холедохолітазу, гнійного холангіту до операції залишається серйозною проблемою білярної хірургії через зростання кількості стертих та атипичних форм перебігу даної патології [3]. Завданням нашого дослідження стало вивчення спектра вищих жирних кислот ліпідів, виділених із сироватки крові хворих на жовчнокам'яну хворобу (ЖКХ) перед оперативним втручанням.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували 35 хворих на ЖКХ із калькульозним холециститом (КХ), серед них з перихоледохальним лімфаденітом – 3, стенозувальним папілітом – 2, перивезикальними абсцесами та інфільтраціями – 4, механічною жовтяницею та гнійним холангітом – 11. КХ без ускладнень виявлено в 15 осіб. Вік пацієнтів – 27-69 років. Жінок було 26, чоловіків – 9.

Підготовку біологічного матеріалу та аналіз жирнокислотного складу ліпідного комплексу сироватки крові виконували за методикою

Т.С. Брюзгіної (1997). Її здійснювали таким чином: сироватку крові в об'ємі 1-1,5 мл вміщували у пробірку з притертим корком ємністю 10-15 мл, додавали 5-7 мл хлороформно-метанольної суміші (у співвідношенні 2:1) і тримали 30 хв у холодильнику при температурі 4 °С, потім відбирали піпеткою Пастера нижній хлороформний шар. Для повноти реакції етап екстракції хлороформно-метанольною сумішшю повторювали двічі. Об'єднані хлороформні екстракти концентрували випарюванням до висихання в струмені азоту при температурі 45 °С на водяній бані. До сухого осаду ліпідів сироватки крові додавали 5 мл 1 % H_2SO_4 в метанолі та переносили розчин у скляну ампулу ємністю 10 мл, після запаювання проводили гідроліз і метилювання в термостаті при температурі 85 °С протягом 20 хв. Екстракцію метилованих жирних кислот (ЖК) ліпідів сироватки крові проводили двічі гексан-ефірною сумішшю (у співвідношенні 1:1) в об'ємі 5 мл (для розмежування фаз додавали 1 мл дистильованої води), відбирали піпеткою Пастера верхній шар. Об'єднані екстракти випарювали до висихання в струмені азоту при температурі 45 °С на водяній бані. Сухий осад розчиняли в 40-50 мкл чистого гексану та вводили у випарювач хроматографа в об'ємі 5 мкл.

© В.Г. Мішалов – д.м.н., проф., Т.С. Брюзгіна – к.т.н., І.І. Теслюк, 2001.

Газохроматографічний аналіз спектра ЖК ліпідів сироватки крові здійснювали на газовому хроматографі "Цвет-500" з полум'яно-іонізаційним детектором в ізотермічному режимі за таких умов: скляна колонка (розміром 2 м × 0,3 см), заповнена фазою 5 % ПЕГС (поліетиленгліколю сукцинату) на хроматоні M-AW-HMDS (зернистість – 0,125-0,160 мм), температура колонки – +187 °С, температура випарювача – +250 °С, витрати азоту та водню – 35 мл/хв, повітря – 200 мл/хв, швидкість діаграмної стрічки – 240 мм/год, чутливість шкали – 10А⁻⁷, об'єм проби, яку вводять – 5 мкл, тривалість аналізу – 20 хв. Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів сироватки крові проводили методом нормування площ із визначенням частки кислот у відсотках. Похибка визначення – ±10 %.

Кров для аналізу спектра ЖК ліпідів сироватки крові брали перед оперативним втручанням із кубітальної вени. Як показник норми використали дані, отримані в 10 практично здорових осіб тієї ж вікової групи.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження показали, що жирнокислотний склад ліпідів сироватки крові хворих на ЖКХ перед оперативним втручанням достовірно відрізнявся від контрольних показників і

характеризувався зростанням ненасиченості ліпідного комплексу сироватки за рахунок зниження вмісту пальмітинової (С_{16:0}) та стеаринової (С_{18:0}) ЖК. Достовірне (р<0,05) збільшення суми поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) зумовлене вірогідним (р<0,05) зростанням кількості лінолевої (С_{18:2}) та арахідонової (С_{20:4}) ЖК. Рівень вільного холестерину в 2 рази перевищив контрольні показники в групі хворих на КХ без ускладнень і дещо перевищив норму в групі осіб із гнійним холангітом.

Результати газохроматографічного аналізу ліпідів сироватки крові наведено в таблиці 1.

ВИСНОВКИ. 1. У хворих на жовчнокам'яну хворобу виявлено значні зміни спектра вищих жирних кислот ліпідів сироватки крові на фоні підвищеного рівня вільного холестерину.

2. Найбільш виражений дисбаланс вищих жирних кислот ліпідів сироватки крові спостерігається при жовчнокам'яній хворобі, ускладненій гнійним холангітом. Він характеризується зростанням ненасиченості за рахунок збільшення суми поліненасичених жирних кислот, що може свідчити про порушення метаболізму есенціальних жирних кислот на етапі утворення ейкозаноїдів і бути прогностичним критерієм при оцінці глибини патологічного процесу.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад (%) ліпідів сироватки крові та рівень (мг/мл) вільного холестерину (M±m)

Жирні кислоти	Норма (n=10)	Калькульозний холецистит (n=24)	Гнійний холангіт (n=11)
С _{16:0} (пальмітинова)	41,9±0,9	35,4±2,2	20,1±1,5
С _{18:0} (стеаринова)	15,1±1,1	9,8±0,8	6,0±0,7
С _{18:1} (олеїнова)	24,2±0,6	18,5±1,2	10,5±1,5
С _{18:2} (лінолева)	16,0±1,4	23,3±1,5	17,7±1,3
С _{20:3} (ейкозотрієнова)	сліди	сліди	7,7±0,8
С _{20:4} (арахідонова)	2,8±0,3	13,1±0,7	37,9±1,8
Сума насичених ЖК	57,0±1,3	45,2±1,3	26,1±1,6
Сума ненасичених ЖК	43,0±1,3	54,8±1,3	73,9±1,6
Сума ПНЖК	18,8±1,4	36,4±1,6	63,4±1,0
Рівень холестерину	0,034±0,003	0,070±0,006	0,041±0,007

ЛІТЕРАТУРА

1. Брюзгіна Т.С., Амосова Е.Н., Лыховский О.И. и др. Жирнокислотный состав липидов в липопротеинах сыворотки крови при хронических заболеваниях печени // Клини. лаб. диагн. – 1999. – № 7. – С. 5-6.

2. Селевич М.И., Русин И.В., Лелевич В.В., Гарелик П.В. Некоторые показатели липидного обмена в плазме крови больных

хроническим калькулезным холециститом // Тер. архив. – 1998. – **70**, № 2. – С. 46-48.

3. Тищенко А.М., Малоштан А.В., Журов Ю.З. и др. Хирургическая тактика при желчекаменной болезни // XIX з'їзд хірургів України: Зб. наукових статей. – Харків, 2000. – С. 107-108.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ, НУЖДАЮЩИХСЯ В ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ ПО ПОВОДУ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ

В.Г. Мишалов, Т.С. Брюзгина, И.И.Теслюк
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

В статье приведены результаты биохимических анализов крови 35 лиц с желчнокаменной болезнью перед оперативным вмешательством. В сыворотке крови методом газовой хроматографии определяли спектр высших жирных кислот липидов и уровень свободного холестерина. Наиболее существенные изменения изученных показателей обнаружено у больных с гнойным холангитом. Показана возможность использования методики для оценки глубины патологического процесса у больных с желчнокаменной болезнью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: желчнокаменная болезнь, гнойный холангит, жирные кислоты липидов сыворотки крови.

FATTY ACID COMPOSITION OF SERUM LIPIDS IN SURGICAL PATIENTS WITH CHOLELITHIASIS

V.G. Mishalov, T.S. Bryuzgina, I.I. Teslyuk
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETSC

Summary

The results of blood investigations in 35 patients with cholelithiasis are given in the article. The serum was examined for higher fatty acid spectrum of serum lipids and free cholesterol rate by gas chromatography before the operative intervention. The most significant changes were detected in patients with purulent cholangitis. Thus, we recommend this measuring for diagnostic and prognostic criteria in patients with complicated form of cholelithiasis.

KEY WORDS: cholelithiasis, purulent cholangitis, higher fatty acids of blood serum.

Отримано 28.02.2001 р.

Адреса для листування: В.Г. Мішалов, кафедра госпітальної хірургії № 2 з курсом грудної та судинної хірургії, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, бульв. Т. Шевченка, 13, Київ, 01032, Україна.

РОЛЬ ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ СИСТЕМИ КЛІТИНИ-ГОСПОДАРЯ НА РАННІХ СТАДІЯХ РОЗВИТКУ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

В.А. Дивоча, М.Т. Микелашвілі, В.Н. Михальчук
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Розуміння регуляторної функції протеолітичних ферментів має принципове значення в біологічному контролі фізіологічних процесів. Порушення функціонування протеїнази і їх регуляції призводить до вірусних, онкологічних, серцево-судинних захворювань тощо. Протеолітична активація найбільш поширена серед вірусів різних таксономічних груп і стосується в основному вірусних глікопротеїдів, що виконують функції адсорбції і злиття.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **інфекційний процес, протеази, регуляція.**

Протягом останніх 10 років суттєво змінилось уявлення про роль протеолітичних ферментів в організмі. Стало очевидним, що протеоліз є особливою формою біологічного контролю. Аналіз широкого матеріалу показав, що обмежений протеоліз є пусковим механізмом багатьох біологічних процесів і забезпечує швидку фізіологічну відповідь організму на зміни умови або сигнал, який надходить іззовні [6, 11]. Розуміння регуляторної функції протеолітичних ферментів має принципове значення. Це важливо як для розшифрування складних біологічних процесів (ділення і трансформації клітин, морфогенезу, метаморфозу, адаптаційної перебудови обміну тощо), так і для з'ясування молекулярних основ патології. Уже зараз зрозуміло, що порушення функцій протеолітичних ферментів і їх регуляції лежить в основі багатьох патологічних станів. До них відносять порушення серцево-судинної діяльності, гострі й хронічні запальні процеси, онкологічні й ендокринні захворювання, нервові й м'язові дистрофії, вірусні захворювання, психологічні й нервові розлади тощо. Очевидно, що точне значення конкретних функцій окремих протеїназ є необхідною умовою для розуміння патогенезу цих захворювань, їх діагностики і раціональної терапії. Регуляторна роль протеолітичних ферментів різноманітна і ще повністю не зрозуміла. Участь протеолітичних ферментів у регуляції пов'язана з протеолізом 2-х типів: повною деградацією білкових молекул і реакціями обмеженого протеолізу, специфічного гідролізу певних пептидних зв'язків. Викликаючи повну деградацію білкових молекул, протеїнази зумовлюють швидкий розпад білків в організмі.

© В.А. Дивоча – к.м.н., М.Т. Микелашвілі, В.Н. Михальчук – к.м.н., 2001.

Протеїнази впливають на білок, беруть участь у його перетворенні на ранніх етапах біосинтезу і супроводжують білок, за образом висловом Нейрата, "від колиски до гробу". Вони також беруть участь у процесингу білка, забирають від синтезованого пребілка ініціаторну амінокислоту і сигнальний пептид, що свідчить про початок трансляції і транспорту поліпептидного ланцюга. Часто це відбувається ще в процесі росту поліпептидного ланцюга або відразу після його завершення. Протеїнази активують неактивні попередники – свого роду резервну форму фізіологічно активних білків-пептидів. У багатьох випадках це є початком фізіологічних процесів. Протеїнази викликають модифікацію й інактивацію активних білків, що (особливо у випадках ключових ферментів обміну) може призводити до перебудови метаболізму, "включення" або "переключення" фізіологічних процесів, а також здійснює деградацію білкових молекул. Обмежений протеоліз являє собою найбільш легкий шлях отримання набору продуктів із різними фізіологічними властивостями. Отже, за допомогою специфічних протеїназ можна максимально повно використати інформацію, закодовану в одному і тому ж біосинтетичному попереднику. Дійсно, при утворенні декількох активних продуктів з одного попередника можна досягнути швидкої генералізованої реакції організму на зовнішній сигнал, що має місце при больовому стресі. У відповідь на нервовий імпульс із больового рецептора з гіпоталамуса в гіпофіз потрапляє АКТГ – рилізінг-фактор. Він викликає швидке звільнення АКТГ, β -ЛПГ і β -ендорфіну. Кожний із них діє на свої тканини-мішені, викликає каскади біохімічних реакцій, що зумовлюють комплексну реакцію організму на біль [12].

Для розуміння ролі протеїназ у біоконтролі фізіологічних процесів необхідно знати механізм регуляції їх активності. Вони проходять, головним чином, 3 шляхами: 1) багато протеолітичних ферментів синтезуються у вигляді неактивних попередників. Для утворення ферментів необхідна активація зимогенів; 2) у плазмі крові, клітинах і тканинах існує потужна система інгібіторів протеїназ, які специфічно блокують активність окремих ферментів і груп ферментів. Активність протеїнази може проявитись тільки після інактивації або вилучення відповідного інгібітора. Порушення балансу в системі "протеїназа-інгібітор" часто є причиною патологічного процесу; 3) в багатьох випадках протеїнази та їх субстрати просторово розділені. Вони можуть локалізуватися в різних субклітинних фракціях однієї і тієї ж клітини, різних типах клітин і тканин, у деяких випадках можуть знаходитись навіть у різних організмах [9].

Погоджене функціонування всіх механізмів регуляції активності протеїназ (просторове об'єднання протеолітичних ферментів і субстрату за рахунок транспорту будь-якого компонента, утворення ферментів із неактивного попередника і вилучення інгібітора) дає можливість здійснювати суворий тимчасовий і просторовий контроль за фізіологічними процесами та їх швидкою реалізацією.

Протеолітична активація найбільш поширена серед вірусів різних таксономічних груп. У пікорна- і торавірусів нарізання білка-попередника є основним механізмом, що призводить до утворення функціональних білків. Протеолітична активація є в більшості інших вірусів і стосується в основному вірусних глікопротеїнів, що виконують функції адсорбції і злиття. У результаті обмеження протеолізу білкова молекула або нарізається на дві субодиниці, як, наприклад, гемаглютинін вірусу грипу, або від неї відрізається невеликий фрагмент, як, наприклад, в обох глікопротеїнів параміксовірусів (HN і F) [1].

Протеолітична активація є високоспецифічним процесом, що відбувається завдяки певним протеазам клітинного або вірусного походження. Так, протеолітичну активацію вірусів грипу і параміксовірусів здійснюють трипсиноподібні протеази клітини, які нарізають білкову молекулу між аргініном і трипсином. Хімо-трипсин і термолізін нарізають попередника із зсувом на 3 і 1 амінокислоту відповідно, при цьому протеолітична активація не відбувається і віріони не викликають злиття.

Білки злиття вірусів грипу і параміксовірусів активуються багатьма протеазами. І ті, й інші протеази з знаходяться в хоріаллантаїсній рідині курячого ембріона, але при фракціонуванні її можуть бути розділені [4]. Для

максимального нарізання вірусів грипу і F білка Сендай *in vitro* вимагалось приблизно 4 години інкубації при температурі 37 °С.

Протеолітична активація має важливе значення в інфекційному циклі вірусів. При її порушенні збір вірусних частин відбуватиметься, але створювані віріони будуть неінфекційними, оскільки в їх складі відсутні активні білки злиття, що забезпечують проникнення вірусів у здорові клітини. Тому протеолітична активація викликає інфекційну активність вірусу і здатність його до генералізації інфекції. Очевидно, властивість вірусу уражати певні тканини організму зумовлюється наявністю в органах і тканинах ферментів, необхідних для протеолітичної активації вірусного потомства.

Значення протеолітичної активації в інфекційному процесі, її універсальність для інгібіторів є передумовою для використання її як мішені з метою лікування вірусної інфекції. Такий підхід до терапії вірусних захворювань відкриває перспективу для створення широкого антивірусного спектра дії, оскільки для певних вірусів можна підібрати специфічні інгібітори протеолізу, які ефективно блокують протеолітичний процесинг.

Зараз протеолітичними ферментами цікавляться практично у всіх галузях медицини. Це пов'язано з тим, що на сьогодні відомо ряд захворювань, у патогенезі яких беруть участь протеїнази. Якщо проаналізувати, які порушення функціонування протеїназ і їх регуляції призводять до патології, то можна виділити такі причини: 1) порушення утворення протеїнази або поява дефектного ферменту, що має місце, наприклад, при деяких спадкових захворюваннях, зокрема гемофілії; 2) поява сторонньої протеїнази, що спостерігається при вірусних і деяких бактеріальних інфекціях; 3) порушення регуляції протеолітичної активності, зокрема балансу протеїназа-інгібітор [5, 8], що може бути наслідком дефекту інгібітора і спостерігається, наприклад, при емфіземі легень і деяких формах м'язової дистрофії; 4) у багатьох випадках патологічні процеси пов'язані із звільненням внутрішньоклітинних ферментів, що має місце при гострих і хронічних запаленнях різного генезу [7, 10]. Із звільненням протеїнази пов'язані й процеси інвазії і метастазування пухлин [2]. Є дані про кореляцію метастатичного потенціалу деяких пухлин з активністю певних протеїназ [3].

У багатьох випадках функції певних протеїназ ще не відомі, з'ясування їх конкретної ролі в розвитку тієї чи іншої патології повинно не тільки сприяти розумінню молекулярних основ різних захворювань, але і намітити шляхи їх науково обґрунтованої діагностики і раціональної терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Букринская А.Г. Молекулярные механизмы раннего взаимодействия вируса гриппа с клетками // Сб. Научных трудов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского АМН СССР. – 1985. – ч. 1. – С. 7-20.
2. Гешилин С.А., Вовчук С.В., Близняк Б.Ф., Варбец В.Ф. Активность протеолитической системы у больных раком молочной железы // Вопр. онкол. – 1989. – **XXX**, № 10. – С. 1191-1197.
3. Гешелин С.А., Вовчук С.В., Близняк Б.Ф. та ін. Показники активності протеолітичної системи в діагностиці раку молочної залози, яєчників і товстої кишки // Одеський мед. журн. – 1997. – № 4. – С. 15-18.
4. Жирнов О.П. Две формы нуклеокапсидного белка (NP) вируса гриппа в виринах и зараженных клетках // Вопр. вирусол. – 1980. – № 5. – С. 546-552.
5. Каминская Г.О., Степаян И.Э., Жуков Н.Л. Состояние системы протеиназы–ингибиторы в бронхоальвеолярном содержимом у больных с диффузным поражением легких // Вопр. мед. химии. – 1988. – № 6. – С. 100-104.
6. Локшина Л.А., Еговора Т.П., Орезович В.Н. Действие двух активных в нейтральной среде тиоловых протеаз селезенки на вазоактивные пептиды // Биохимия. – 1983. – **48**, № 6. – С. 951-958.
7. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и микрофаге. – Новосибирск, 1983. – 70 с.
8. Оглоблина О.Г. Кислотные белки-ингибиторы протеиназ млекопитающих. Структура, свойства, биологическая роль // Биохимия. – 1982. – **47**, № 10. – С. 1587-1606.
9. Орехович В.И., Локшина Л.А., Елисеєва Ю.П., Павлихина Л.В. Роль протеолитических ферментов в регуляции физиологических процессов // Вестн. АМН СССР. – 1984. – № 5. – С. 3-11.
10. Хорст А. Молекулярные основы патогенеза болезни. М., 1982. – 202 с.
11. Garten W., Bosch F.X., Linder D. et al. Proteolytic activation of the influenza virus hemagglutinin: The structure of the cleavage site and the enzymes involved in cleavage // Virology. – 1995. – **115**. – P. 361-374.
12. Korant B.D., Towatari T. Protein product synthesized by a cloned viral-protease gene // Biomed. Biochim. Acta. – **45**. – 1996. – P. 11-12.

РОЛЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТКИ-ХОЗЯИНА НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.А. Дивоча, М.Т. Микелашвили, В.Н. Михальчук
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Понимание регулярной функции протеолитических ферментов имеет принципиальное значение в биологическом контроле физиологических процессов. Нарушение функционирования протеиназ и их регуляции приводит к вирусным, онкологическим, сердечно-сосудистым заболеваниям и т.п. Протеолитическая активация наиболее распространена среди вирусов разных таксономических групп и касается в основном вирусных гликопротеидов, выполняющих функции адсорбации и слияния.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **инфекционный процесс, протеазы, регуляция.**

THE ROLE OF PROTEOLYTIC SYSTEM OF THE CELL-HOST AT THE EARLY STAGES OF THE VIRAL INFECTION DEVELOPMENT

V.A. Dyvocha, M.T. Mikelashvili, V.N. Mykhalchuk
ODESA STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

Understanding of the regulatory function of proteolytic enzymes is of great importance for biological control of physiological processes. Disturbances of proteinase functioning and regulation lead to viral, oncologic, cardiovascular diseases. Proteolytic activation is mostly spread among the viruses of different taxonomic groups and it mainly concerns viral glycoproteids fulfilling the functions of adsorption and fusion.

KEY WORDS: **infectious process, proteases, regulation.**

Отримано 22.01.2001 р.

Адреса для листування: В.А. Дивоча, Одеський державний медичний університет, пров. Валівський, 2, 65026, Одеса, Україна.