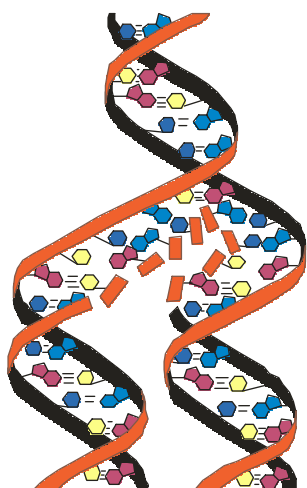


Академія медичних наук України  
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського  
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця  
Українська Академія наук національного прогресу

# 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**

**4** 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*
- ❖ *Pathochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Pathochemistry of Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Pathochemistry 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

## MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить з 1999 року  
Published since 1999

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія KB № 3647  
Certificate of state registration: series KB № 3647

Передплатний індекс: 22869  
Subscription index: 22869

Відповідно до постанови Президії ВАК України № 1-05/7 від 09.06.1999 р. 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.

Журнал "Медична хімія" акредитований науково-видавничою радою Президії АМН України (лист № 02-17/1341 від 25.10.2001 р.).

**АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:**  
Журнал "Медична хімія"  
Видавництво "Укрмедкнига"  
Майдан Волі, 1  
46001, м. Тернопіль  
УКРАЇНА

**EDITORIAL OFFICE ADDRESS:**  
Journal "Medical Chemistry"  
Publishing House "Ukrmedknyga"  
Maidan Voli, 1  
46001, Ternopil  
UKRAINE

Tel.: (0352) 22-97-29  
(0352) 25-47-84

Fax: (0352) 22-41-83  
E-mail: [korda@tdma.ssft.ternopil.ua](mailto: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"  
© Scientific Journal "Medical Chemistry"

## Зміст

## Contents

### ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

*Платонова Т.М., Горницька О.В., Метеліцина І.П., Савчук О.М.* (Київ, Одеса) КОМПОНЕНТИ СИСТЕМИ ЗГОРТАННЯ КРОВІ ТА ФІБРИНОЛІЗУ В СУБРЕТИНАЛЬНІЙ РІДИНІ ПРИ РЕГМАТОГЕННОМУ ВІДШАРУВАННІ СІТКІВКИ ОКА 5

*Зупанець І.А., Бездітко Н.В., Отришко І.А.* (Харків) КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПАРАЛЕЛІ ДИНАМІКИ ЕНДОГЕННОГО N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМІНУ ПРИ ДЕСТРУКТИВНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ОРГАНА ЗОРУ 9

*Бухтіарова Т.А., Шатиркіна Т.В., Бобкова Л.С.* (Київ) КОМПЛЕКСИ АМІЗОНУ З ГІСТАМІНОМ І АПОЕНЗИМОМ ГІСТИДИНДЕКАРБОКСИЛАЗИ В МЕХАНІЗМІ ЙОГО ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ 13

*Вовк О.І., Афонюшкін Т.А., Дробот Л.Б., Великий М.М.* (Львів) АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ І ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У НОРМАЛЬНИХ І ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИНАХ У КУЛЬТУРІ 18

*Кухарчук О.Л., Зальцман Н.К.* (Чернівці) НЕОНАТАЛЬНИЙ ГІПОТИРЕОЗ І ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЯ: ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ 22

*Малий В.П., Полукчи О.К., Самохіна Л.М.* (Київ, Харків) ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ДИФТЕРІЙНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЕМОКСИПІНОМ 27

*Дівоча В.П., Сова Ю.Г., Михальчук В.М.* (Одеса) ВИВЧЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОФЕРМЕНТІВ ТРИПСИНОПОДІБНИХ ПРОТЕАЗ 31

*Олійник С.А.* (Київ) КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ НОВОГО РОСЛИННОГО ПРЕПАРАТУ "ПОЛІФІТОЛ-1" З СОЛЯМИ МЕТАЛІВ ТА ДЕЯКИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ЗАСОБАМИ 35

*Соловодзінська І.Є.* (Тернопіль) КОРЕКЦІЯ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ДЕТОКСИКУЮЧОЇ СИСТЕМИ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ КАДМІЄВОМУ ТОКСИКОЗІ ЗА ДОПОМОГОЮ ЛІПОСОМ 40

*Бризицький О.А., Свечнікова О.М., Ісаєв С.Г., Дроговоз С.М.* (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ НІТРОЗАМІЩЕНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ 44

### ORIGINAL INVESTIGATIONS

*Platonova T.N., Gornitskaya O.V., Metelitsina I.P., Savchuk A.N.* (Kyiv, Odesa) COAGULATION AND FIBRINOLYSIS SYSTEM COMPONENTS IN SUBRETINAL FLUID AT EYE'S REGMATOGENIC RETINAL DETACHMENT

*Zupanets I.A., Bezdetko N.V., Otrishko I.A.* (Kharkiv) CLINICO-EXPERIMENTAL PARALLELS OF ENDOGENIC N-ACETYLGLUCOSAMINE DYNAMICS FOR DESTRUCTIVE-INFLAMMATORY DISEASES OF THE VISUAL ORGAN

*Bukhtiarova T.A., Shatyrkina T.V., Bobkova L.S.* (Kyiv) AMIZON COMPLEXES WITH HISTAMINE AND HISTIDINE DECARBOXYLASE APOENZYME IN THEIR ANTI-INFLAMMATORY ACTION

*Vovk O.I., Afonyushkin T.A., Drobot L.B., Velyky N.N.* (Lviv) ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES AND LIPID PEROXIDATION LEVEL IN NORMAL AND TRANSFORMED CELLS IN CULTURE

*Kukharchuk O.L., Zaltsman N.K.* (Chernivtsi) NEONATAL HYPOTHYROIDISM AND LIPID PEROXIDATION: PATHOGENETIC ROLE OF HEAVY METALS

*Maly V.P., Polukchi O.K., Samokhina L.M.* (Kyiv, Kharkiv) SOME INDICES OF THE PROTEOLYSIS SYSTEM AT EXPERIMENTAL DIPHTHERIA INTOXICATION AND THEIR EMOXIPIN CORRECTION

*Divocha V.A., Sova Yu.H., Mykhalchuk V.M.* (Odesa) THE STUDYING OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF TRYPSIN-SIMILAR PROTEASES ISOENZYMES

*Oliyynik S.A.* (Kyiv) COMPLEXMAKING OF NEW PHYTOREMEDY "POLYPHYTOLUM-1" WITH METAL SALTS AND SOME DRUGS

*Solovodzinska I.Ye.* (Ternopil) THE CORRECTION OF DETOXICATION SYSTEM AND ENDOGENOUS INTOXICATION BY LIPOSOMES IN EXPERIMENTAL CADMIUM TOXICOSIS

*Brizitsky A.A., Svechnikova E.N., Isayev S.G., Drogovos S.M.* (Kharkiv) THE INVESTIGATIONS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF METAL COMPLEXES N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS

Бульса М.Г., Хміль С.В., Ничик А.З. (Щецин, Польша; Тернопіль) ГОРМОНАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ І ОБМІН ЖИРІВ У ЖІНОК З ФІБРОМІОМОЮ МАТКИ І ЦИКЛІЧНИМ БОЛЕМ У МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗАХ	48	Bulsa M., Khmil S., Nychyk A. (Schecin, Poland; Ternopil) HORMONAL PROFILE AND LIPID METABOLISM IN FEMALES WITH UTERUS FIBROMYOMA AND CYCLIC PAIN IN BREASTS	
Тєфтуєва Н.Б., Яремій І.М., Григор'єва Н.П. (Чернівці) ВПЛИВ НАСТОЯНКИ ПЕРСТАЧУ ПРЯМОСТОЯЧОГО НА ГЛУТАТІОНОВУ СИСТЕМУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ	52	Teftuyeva N.B., Yaremiy I.M., Grygorieva N.P. (Chernivtsi) THE INFLUENCE OF THE POTENTILLA ERECTA SPIRITUOUS TINCTURE ON THE GLUTATHIONE SYSTEM OF RAT LIVER AT TOXIC HEPATITIS	
Сахарова Т.С. (Харків) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОЛІПІДЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ НА ОСНОВІ ДУБИЛЬНИХ РЕЧОВИН	56	Sakharova T.S. (Kharkiv) EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE HYPOLIPIDEMIC ACTIVITY OF NEW NATURAL ANTIOXIDANTS ON THE BASIS OF TANNINIC MATTERS	
<b>КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ</b>		<b>BRIEF REPORTS</b>	
Гоженко А.І., Якименко Л.В., Долوماتов С.І., Москаленко Т.Я., Амбросійчук О.В. (Одеса) ПОКАЗНИКИ КЛІРЕНСУ АНТИПІРИНУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ У ВАГІТНИХ	60	Gozhenko A.I., Yakimenko L.V., Dolomatov S.I., Moskalenko T.Y., Ambrosiychuk E.V. (Odesa) INDICES OF ANTIPYRINE CLEARANCE AT CHRONIC PYELONEPHRITIS CONDITIONS IN PREGNANTS	
Галнікіна С.О., Белінська Л.А. (Тернопіль) ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ В ЖІНОК ІЗ ПОСТКАСТРАЦІЙНИМ СИНДРОМОМ	63	Galnykina S.O., Belinska L.A. (Ternopil) PECULIARITIES OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM INDICES IN WOMEN WITH POSTCASTRATION SYNDROME	
Мітюк І.І., Мурад А., Кривецький В.Ф., Покидько М.І., Полянчук М.А., Швецова Н.О. (Вінниця) КОРЕКЦІЯ ДИХАЛЬНИХ РОЗЛАДІВ У ПОТЕРПІЛИХ З ТРАВМАТИЧНИМИ ПОШКОДЖЕННЯМИ ЛЕГЕНЬ ЕКЗОГЕННИМ СУРФАКТАНТОМ	66	Mitiuk I.I., Murad A., Kryvetsky V.F., Pokydko M.I., Polianchuk M.A., Shvetsova N.O. (Vinnytsia) CORRECTION OF RESPIRATORY DISTURBANCES IN PATIENTS WITH TRAUMATIC DAMAGES OF THE LUNGS BY EXOGENIC SURFACTANT	
Кравець Т.В., Корда І.В. (Рівне, Тернопіль) КОРЕКЦІЯ ФЛУРЕНІЗИДОМ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ЖІНОК З ФАКТОРАМИ ІНФЕКЦІЙНОГО РИЗИКУ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ КЕСАРЕВОГО РОЗТИНУ	69	Kravets T.V., Korda I.V. (Rivne, Ternopil) CORRECTION OF THE DISTURBANCES OF OXIDATIVE PROCESSES IN WOMEN WITH RISK FACTORS OF INFECTIOUS DISEASES AFTER THE CAESARIAN SECTION OPERATION BY FLURENIZID	
<b>ОГЛЯДИ</b>		<b>REVIEWS</b>	
Камінський Д.В., Черкас А.П., Єлісеєва О.П., Куркевич А.К., Алексевиц Я.І. (Львів) СЛАБКІ ЕЛЕКТРОМАГНІТНІ ПОЛЯ Й АДАПТАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ: ФАКТИ І ТЕОРІЇ	72	Kaminskiy D.V., Cherkas A.P., Yeliseyeva O.P., Kurkevich A.K., Aleksevich Ya.I. (Lviv) WEAK ELECTROMAGNETIC FIELDS AND ADAPTIVE PROCESSES: FACTS AND THEORIES	
Сабедишин Р.О. (Рівне) РОЛЬ ДАЛАРГІНУ В ПАТОГЕНЕТИЧНІЙ ТЕРАПІЇ СЕРЦЕВО-СУДИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ	82	Sabadyshyn R.A. (Rivne) THE ROLE OF DALARGIN IN THE PATHOGENETIC THERAPY OF CARDIOVASCULAR DISEASES	
<b>МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>		<b>METHODS OF BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS</b>	
Юкало В.Г. (Тернопіль) ІОНООБМІННА ХРОМАТОГРАФІЯ БІЛКІВ КАЗЕЇНОВОГО КОМПЛЕКСУ В ОБ'ЄМІ	87	Yukalo V.G. (Ternopil) ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY OF CASEIN COMPLEX PROTEINS BY BATCH PROCEDURE	
<b>НЕКРОЛОГ</b>		<b>OBITUARY</b>	
СВІТЛИЙ ПАМ'ЯТІ ПРОФ. Г.О. БАБЕНКА	91	TO THE MEMORY OF PROF. H.O. BABENKO	

УДК 617.735-007.281-003.828+612.115-07:577.1

## КОМПОНЕНТИ СИСТЕМИ ЗГОРТАННЯ КРОВІ ТА ФІБРИНОЛІЗУ В СУБРЕТИНАЛЬНІЙ РІДИНІ ПРИ РЕГМАТОГЕННОМУ ВІДШАРУВАННІ СІТКІВКИ ОКА

Т.М. Платонова<sup>1</sup>, О.В. Горницька<sup>1</sup>, І.П. Метеліцина, О.М. Савчук<sup>1</sup>ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ<sup>1</sup>

ІНСТИТУТ ЗАХВОРЮВАНЬ ОКА ТА ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ ІМ. В.П. ФІЛАТОВА АМН УКРАЇНИ, ОДЕСА

Виявлено накопичення протромбіну та зниження рівня протеїну С у субретинальній рідині при важких формах регматогенного відшарування сітківки ока, які супроводжуються післяопераційними ускладненнями. Висловлено припущення про взаємозв'язок між накопиченням протромбіну і зниженням рівня протеїну С, що свідчить про можливу локальну активацію компонентів системи згортання крові, та ступенем тяжкості відшарування сітківки ока і розвитком післяопераційних ускладнень. Вищесказане має важливе значення в розумінні патогенезу проліферативних процесів, які можуть виникати в післяопераційному періоді.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** регматогенне відшарування сітківки ока, субретинальна рідина, тромбози судин, протромбін, активатор протромбіну із зміїної отрути.

ВСТУП. Відомо, що ряд захворювань, які супроводжуються змінами в системі згортання крові, сприяють розвитку різних офтальмопатологій, у тому числі патологій очного дна [11]. Існують дані про роль гемостатичних порушень у патогенезі тромбозів ретинальних судин, уражень судин сітківки ока [12]. Деякі захворювання органа зору супроводжуються змінами вмісту та/або активності факторів згортання крові, які містяться в тканинах і рідинах інтактного ока людини [2, 4].

Накопичення субретинальної рідини (СРР) є результатом розвитку патологічного процесу при регматогенному відшаруванні сітківки ока (РВС). Дослідження складу СРР нечисленні. Доведено наявність у СРР компонентів, характерних для склоподібного тіла, а також для крові, що свідчить про можливість проникнення плазми крові із судинного русла в субретинальний простір. Цей процес, очевидно, викликаний порушенням гематоофтальмічного бар'єру [10]. Зроблено припущення про існування взаємозв'язку між наявністю і рівнем ряду біохімічних параметрів у СРР та клінічними ознаками, які характеризують ступінь тяжкості відшарування сітківки [1, 3].

Важливою проблемою є дослідження взаємозв'язку між активацією компонентів системи гемостазу судин ока і ступенем тяжкості відшарування сітківки, а також розвитком після-

операційних геморагічних і проліферативних ускладнень.

Метою даної роботи є дослідження складу білків СРР та розробка способу експрес-тестування вмісту ключового проферменту системи згортання крові – протромбіну – в СРР при РВС для прогнозування можливих ускладнень після оперативного втручання.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У СРР 29 пацієнтів із РВС було визначено вміст антитромбіну III, фактора X, протромбіну, плазміногену, протеїну С. Концентрацію антитромбіну III визначали за допомогою хромогенного субстрату S-2238 ("Serva", Німеччина), гепарину та тромбіну [9]. Вміст фактора X системи згортання крові – за допомогою хромогенного субстрату S-2765 ("American Diagn. Inc.", США) та отрути гадюки Рассела (*Russel's viper*) для активації фактора X. Концентрацію протромбіну – за допомогою активатора протромбіну екамуліну, одержаного з отрути Ефі багатолускової (*Echis multisquamatus*) [6], та хромогенного субстрату S-2238 ("Kabi vitrum", Швеція). Концентрацію плазміногену – за допомогою стрептокінази ("Kabi Vitrum", Швеція) та хромогенного субстрату S-2251 ("Sigma", США). Вміст протеїну С – за допомогою активатора протеїну С, одержаного з отрути щитомордника звичайного (*Agkistrodon halys halys*) [8], та хромогенного субстрату протеїну С Spectrozyme 236 ("American Diagn. Inc.", США). Кількіс-

© Т.М. Платонова – к.б.н., О.В. Горницька, І.П. Метеліцина – к.б.н., О.М. Савчук, 2001.

не визначення вмісту факторів системи згортання крові проводили за допомогою калібрувальних кривих.

Ензим-електрофорез проводили у 12 % поліакріламідному гелі в присутності Дс-На із співполімеризованим у гель фібриногеном замість казеїну [13].

Пул донорської плазми одержували з крові 10 донорів. Кров брали пункцією ліктьової вени натще і негайно змішували з 3,8 % розчином лимоннокислого натрію в пропорції 9:1. Для отримання плазми кров центрифугували при 1500 g (2,5 тис. об./хв).

СРР одержували при зовнішньому дренажній субретинального простору під час хірургічного втручання з приводу усунення РВС. Гемолізні зразки СРР не досліджували.

Хворі знаходились на лікуванні у відділенні вітреоретинальної хірургії Інституту захворювань ока та тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України. Їм було проведено склеропластичне усунення відшарування сітківки.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У даній роботі для дослідження вмісту білків у СРР було адаптовано діагностичні тести, які дозволяють характеризувати ряд параметрів системи гемостазу [8]. У пацієнтів з РВС визначали вміст факторів систем згортання крові та фібринолізу в СРР.

Згідно з даними літератури і досліджень, проведених нами раніше, показано наявність у СРР плазміногену/плазміну [14]. Дані ензим-електрофорезу (рис. 1) свідчать про наявність у СРР активатора плазміногену урокіназного типу (u-PA) з молекулярною масою 56 кДа. Можливо, наявність цього компонента системи гемостазу підвищує потенціал фібринолітичної системи в СРР. Тканинного активатора плазміногену (t-PA) в СРР не виявлено.

З даних, представлених у таблиці 1, видно, що для пацієнтів з ускладненими формами РВС, а також із незадовільними результатами хірургічного втручання та/або з післяопера-

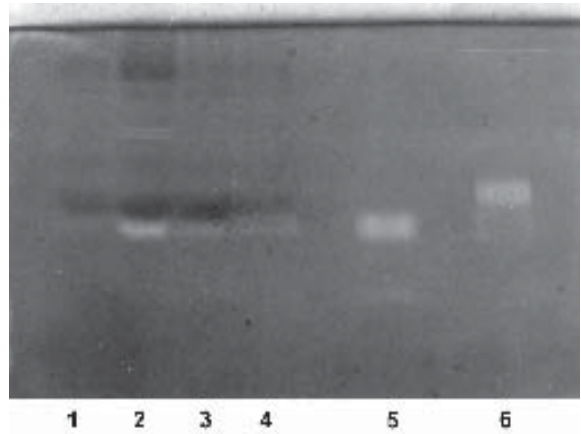


Рис. 1. Ензим-електрофореграма компонентів субретинальної рідини:

- 1-4 – зразки субретинальної рідини;
- 5 – урокіназа;
- 6 – тканинний активатор плазміногену.

ційними ускладненнями, характерні збільшення вмісту в СРР фактора II системи згортання крові (протромбіну) і зменшення вмісту інгібітора системи згортання крові (протеїну С). Накопичення протромбіну та його активація можуть призвести до утворення тромбіну, який перетворює фібриноген на фібрин і, таким чином, сприяє формуванню тромбу. Зниження рівня протеїну С спостерігається на фоні значного підвищення рівня протромбіну і може розглядатися як фактор ризику тромботичних ускладнень. Отримані дані можна використати для прогнозування можливих ускладнень, що розвиваються в ході лікування РВС.

Для виявлення протромбіну в СРР було досліджено вплив СРР на час згортання крові в таких тестах: активований частково тромбопластиновий час (АЧТЧ), протромбіновий час (ПЧ), екамуліновий час (ЕЧ) [10] (табл. 2). Перевірка впливу СРР на протромбіновий час згортання плазми крові та АЧТЧ показала, що дані тести малочутливі до виявлення проферментів системи згортання крові в СРР. Очевидно, це пов'язано з тим, що тести є

Таблиця 1 – **Вміст компонентів системи згортання крові та фібринолізу в СРР хворих із РВС**

Клінічні ознаки відшарування сітківки ока		Стат. показники	Антитромбін III, мкг/л	Фактор X, %	Протромбін, мкг/мл	Плазміноген, мкг/мл	Протеїн С, %
Обсяг РВС	1-2 квадранти	n M±m	5 13,72±5,66	7 0,91±0,80	7 0,13±0,08	5 0,56±0,14	7 4,94±1,64
	3-4 квадранти	n M±m	7 21,45±10,94	11 1,55±0,89	11 0,78±0,24	10 0,79±0,17	11 3,17±1,09
Наявність післяопераційних ускладнень	немає	n M±m	8 11,29±4,15	12 1,53±0,92	12 0,43±0,14	9 0,63±0,15	12 4,93±0,80
	ε	n	2	3	3	3	3
		M±m	50,2±34,2	1,47±0,52	1,40±0,61	1,32±0,10*	2,03±0,90*

Примітка. \* – зміни достовірні порівняно з групою хворих без ускладнень.

Таблиця 2 – Вплив CPP на АЧТЧ, протромбіновий (ПЧ) та екамуліновий (ЕЧ) час згортання плазми крові

CPP, мкл	АЧТЧ, с	ПЧ, с	ЕЧ, с	EI, %
5	40	20	56	172
10	35	20	46	190
20	34	22	34	307
50	32	-	-	-
Норма (час згортання плазми крові)	40	20	96	100

результатом сумарної активації факторів зовнішнього та внутрішнього шляхів згортання крові й не дають конкретної інформації про вміст окремих компонентів системи згортання крові. Однак у разі значного збільшення вмісту протромбіну (2,2 мкг/мл) та фактора X системи згортання крові (0,2 мкг/мл) спостерігається скорочення часу згортання в тесті АЧТЧ в 1,5-20 разів.

Для визначення вмісту протромбіну в плазмі крові нами було розроблено екамуліновий тест [5]. Суть методу полягає у використанні виділеного з отрути ефи багатолускової ферментного препарату екамуліну – активатора протромбіну, який, на відміну від тромбoplastину, здатний активувати безпосередньо протромбін і його функціонально неактивні форми (претромбін і декарбоксілований протромбін) без участі іонів кальцію, фосфоліпідів та інших факторів [6]. Результати можна представити у вигляді екамулінового індексу – співвідношення часу згортання плазми крові донорів і суміші (CPP + плазма), що досліджується (табл. 2). Тест ЕЧ був чутливим до дії CPP. Екамуліновий індекс (EI), що перевищує 100 %, свідчить про наявність протромбіну. При цьому, чим вищий індекс, тим вища концентрація білка, що накопичується. При вне-

сенні в тест ЕЧ 20 мкл CPP можна виявити навіть невелику кількість протромбіну. Скорочення часу згортання більше ніж у 3 рази свідчить про значне накопичення протромбіну в CPP.

Аналіз наведених даних показує, що запропонований тест специфічний, високочутливий і дозволяє прогнозувати тромботичні ускладнення після операції при регматогенному відшаруванні сітківки ока і попереджувати їхній розвиток, використовуючи медикаментозну терапію.

**ВИСНОВКИ.** 1. Виявлено накопичення протромбіну та зниження рівня протеїну С в CPP при важких формах РВС, які супроводжуються післяопераційними ускладненнями.

2. Зроблено припущення про взаємозв'язок між накопиченням протромбіну та зниженням рівня протеїну С (що свідчить про можливу локальну активацію компонентів системи згортання крові), ступенем тяжкості відшарування сітківки та розвитком післяопераційних ускладнень.

3. Запропоновано спосіб виявлення накопичення ключового проферменту системи згортання крові – протромбіну – в субретинальній рідині, що дозволяє прогнозувати тромботичні ускладнення після операції при регматогенному відшаруванні сітківки ока.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Ахметели Л.М. Биохимические исследования субретинальной жидкости при отслойках сетчатой оболочки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М, 1972. – 25 с.
2. Евграфов В.Ю., Алябьева Ж.Ю. Внутриглазные кровоизлияния диабетического генеза: современные представления о патогенезе и ферментотерапии // Вестн. офтальмол. – 1995. – **111**, № 4. – С. 35-37.
3. Метелицына И.П., Платонова Т.Н., Левицкая Г.В., Мирошниченко О.С. Факторы свертывающей и фибринолитической систем в субретинальной жидкости у больных с разной степенью тяжести и исходами склеропластического лечения регматогенной отслойки сетчатки // Укр. біохім. журн. – 2000. – **72**, № 2. – С. 53-58.

4. Пименов И.В., Зайцева Н.С., Волколакова Р.Ю. Состояние гемостаза у больных с патологией сетчатки и сосудистого тракта глаза // Вестн. офтальмол. – 1992. – **108**, № 2. – С. 27-30.
5. Платонова Т.Н., Сушко Е.А., Петров А.В., Соловьев Д.А. Определение общего уровня протромбина и выявление его функционально неактивных форм с помощью фермента экамулина, выделенного из яда эфы многочешуйчатой // Укр. биохим. журн. – 1995. – **67**, № 4. – С. 75-80.
6. Соловьев Д.А., Платонова Т.Н., Угарова Т.П. Выделение и характеристика экамулина – активатора протромбина из яда эфы многочешуйчатой // Биохимия. – 1996. – **61**, № 6. – С. 1094-1105.
7. Теплинская Л.Е., Калибердина А.Ф., Кацнельсон Л.А., Гуртова Е.Е. Иммунологические

нарушения при тромбозах вен сетчатки в молодом возрасте // Вестн. офтальмол. – 1991. – **107**, № 3. – С. 44-48.

8. Токар А.В., Макогоненко Є.М., Платонова Т.М. та ін. Сучасні методи лабораторної діагностики внутрішньосудинного мікроцидання крові // Метод. рекоменд. – К., 1994. – 22 с.

9. Abildgaard U., Lie M., Odegard O.R. Antithrombin (Heparin cofactor) assay with "new" chromogenic substrates (S-2238 and Chromozym TH) // Thromb. Res. – 1977. – **11**, № 4. – P. 549-553.

10. Ando N., Sen H.A., Berkowitz B.A. et al. Localization and quantitation of blood-retinal barrier breakdown in experimental proliferative vitreoretinopathy // Arch. Ophthalmol. – 1994. – **112**, № 1. – P. 117-122.

11. Brown G.C. Central retinal vein obstruction with lipid exudates // Arch. Ophthalmol. – 1989. – **107**, № 7. – P. 1001-1005.

12. Gleerup G., Winther K. Decreased fibrinolytic activity and increased platelet function in hypertension. Possible influence of calcium antagonism // Am. J. Hypertens. – 1991. – **4**(2Pt2). – P. 168S-171S.

13. Huesen C., Dowdle E.B. Electrophoretic analysis of plasminogen activators in polyacrylamide gels containing sodium dodecyl sulphate and copolymerized substrates // Anal. Biochem. – 1980. – **102**, №1. – P.196-202.

14. Immonen I., Konttinen Y.T., Sorsa T. et al. Proteinases in subretinal fluid // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 1996. – **234**, № 2. – P. 105-109.

## КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ФИБРИНОЛИЗА В СУБРЕТИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РЕГМАТОГЕННОЙ ОТСЛОЙКЕ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА

**Т.Н. Платонова<sup>1</sup>, О.В. Горницкая<sup>1</sup>, И.П. Метелицына, А.Н. Савчук<sup>1</sup>**

*ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. А.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ<sup>1</sup>,  
ИНСТИТУТ ГЛАЗНЫХ БОЛЕЗНЕЙ И ТКАНЕВОЙ ТЕРАПИИ ИМ. В.П. ФИЛАТОВА АМН УКРАИНЫ, ОДЕССА*

### Резюме

*Выявлено накопление протромбина и снижение уровня протеина С в субретинальной жидкости при тяжелых формах регматогенной отслойки сетчатки глаза, сопровождающихся послеоперационными осложнениями. Высказано предположение о взаимосвязи между накоплением протромбина и снижением уровня протеина С, что свидетельствует о возможной локальной активации компонентов системы свертывания крови, и степенью тяжести отслойки сетчатки глаза и развитием послеоперационных осложнений. Вышесказанное имеет важное значение в понимании патогенеза пролиферативных процессов, которые могут возникать в послеоперационный период.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** регматогенная отслойка сетчатки глаза, субретинальная жидкость, тромбозы сосудов, протромбин, активатор протромбина из змеиного яда.

## COAGULATION AND FIBRINOLYSIS SYSTEM COMPONENTS IN SUBRETINAL FLUID AT EYE'S REGMATOGENIC RETINAL DETACHMENT

**T.N. Platonova<sup>1</sup>, O.V. Gornitskaya<sup>1</sup>, I.P. Metelitsina, A.N. Savchuk<sup>1</sup>**

*INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY BY A.V. PALLADIN OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV<sup>1</sup>  
THE FILATOV RESEARCH INSTITUTE OF EYE DISEASES AND TISSUE THERAPY  
OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, ODESA*

### Summary

*It was shown the prothrombin accumulation and protein C level decrease in subretinal fluid at eye's regmatogenic retinal detachment severe forms and postoperative complications. The correlation between prothrombin accumulation and protein C level decrease has been supposed to testify about possible the local blood coagulation system components activation, and the retinal detachment severity level and the development of postoperative complications. Above mentioned is of great importance for understanding of proliferative processes pathogenesis, which can appear during postoperative period.*

**KEY WORDS:** regmatogenic retinal detachment, subretinal fluid, postoperative complications, vessel thrombosis, prothrombin, prothrombin snake venom activator.

Отримано 24.04.2001 р.

Адреса для листування: Т.М. Платонова, пр. Науки, 42/1, корпус 12, кв. 23, Київ, 01028, Україна.



## КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПАРАЛЕЛІ ДИНАМІКИ ЕНДОГЕННОГО N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМІНУ ПРИ ДЕСТРУКТИВНО- ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ОРГАНА ЗОРУ

І.А. Зупанець, Н.В. Бездітко, І.А. Отрішко  
НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ

*Вивчено динаміку ендogenous N-ацетилглюкозаміну в структурах ока і сироватці крові кролів на моделях асептичного запалення ока, хімічного опіку і проникного поранення рогівки, а також у сироватці крові хворих з увеїтами, проникними пораненнями та опіками рогівки. Установлено, що розвиток асептичного запалення, травматичного пошкодження та опік рогівки в експериментальних тварин супроводжуються зниженням рівня ендogenous N-ацетилглюкозаміну в тканинах ока і паралельним підвищенням його в крові. Динаміка рівня ендogenous N-ацетилглюкозаміну корелює з динамікою клінічних проявів експериментальної офтальмопатології. У хворих на деструктивно-запальні захворювання переднього відділу ока, як і у тварин з експериментальною патологією, має місце підвищення рівня ендogenous N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові. Одержані результати дозволяють припустити, що й у людей деструкція сполучнотканинних структур ока супроводжується зниженням вмісту в них ендogenous N-ацетилглюкозаміну, а рівень останнього в сироватці крові певною мірою відображає ступінь цієї деструкції.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **запалення, глікозаміноглікани, глюкозамін.**

ВСТУП. Одним із перспективних напрямків створення нових високоєфективних препаратів для лікування захворювань різної етіології та патогенезу є розробка лікарських засобів на основі природних метаболітів [3]. Одним з найбільш розповсюджених метаболітів живих організмів, у тому числі людини, є D-глюкозамін. Як структурний компонент він входить до складу глікопротеїнів і глікозаміногліканів сполучної тканини [5, 7]. Рядом авторів показано, що при деструктивних процесах у різних органах, особливо при патології сполучнотканинних структур, рівень ендogenous N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові може відображати ступінь ураження [6, 10, 11]. До похідних сполучної тканини відносять багато структур органа зору: рогівку, склоподібне тіло, склеру, кришталик [7, 8]. Імовірно, розвиток офтальмологічної патології супроводжується динамікою ендogenous глюкозаміну в цих структурах.

Метою представленої роботи стало клініко-експериментальне вивчення динаміки ендogenous N-ацетилглюкозаміну при деструктивно-запальних захворюваннях органа зору

для визначення його можливої ролі в розвитку даної патології.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вміст ендogenous N-ацетилглюкозаміну визначали за реакцією взаємодії з ацетилацетоном і реактивом Ерліха за методом Дреслера в модифікації [2].

Дослідження проводили на 28 кролях (56 очей). Використали кілька експериментальних моделей. Асептичне запалення ока викликали циклокріопексією. Під місцевою анестезією на відстані 4 мм уздовж нижнього лімба рогівки здійснювали вісім кріоаплікацій кріоаплікатором із діаметром наконечника 2 мм при температурі -80 °С з експозицією 60 с. Лінійне проникне поранення довжиною 5 мм наносили ножом Graefe у периферичній частині рогівки. Хімічний опік середнього ступеня тяжкості викликали нанесенням на центральну зону рогівки 1 % розчину NaOH з експозицією 5 с. Вираженість клінічних проявів реакції ока на дію пошкоджуючого агента оцінювали в умовних балах на підставі раніше розроблених критеріїв [1]. Відповідно до цих критеріїв, легкому ступеню тяжкості відповідає інтервал від 1 до 8 балів, середньому – 9-14 балів, важкому – 15-23 бали.

© І.А. Зупанець – д.м.н., проф., Н.В. Бездітко – к.м.н., І.А. Отрішко, 2001.

Обстежено також 69 хворих, які знаходилися на лікуванні в Харківській міській клінічній офтальмологічній лікарні № 14 ім. Л.Л. Гіршмана. Визначення вмісту ендogenous N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові проводили в перший день надходження хворих у стаціонар та по закінченні курсу лікування. Для порівняння застосовували дані про вміст N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові 11 добровольців обох статей віком від 22 до 36 років, а також результати, отримані раніше на кафедрі клінічної фармації іншими дослідниками [2]. Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента за допомогою комп'ютерних програм [4].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У тварин після кровопливу протягом 1-3 днів відмічали виражені клінічні прояви запальної реакції: змішану ін'єкцію судин (85,6 %), набряк і преципітати на задній поверхні рогівки (42,8 %), у 75 % очей – підвищення VOT більше як на 30 %, порівняно з вихідним рівнем. Сумарна вираженість запальних явищ складала 11-12 балів. У цей період відзначали достовірне зниження вмісту N-ацетилглюкозаміну в рогівці в 1,3 раза. У сироватці крові він збільшувався в 1,4 раза. Через 10 днів, коли клінічні ознаки запалення нівелювалися, рівень N-ацетилглюкозаміну нормалізувався. Проведений кореляційний аналіз дозволив виявити досить тісний зв'язок між ступенем вираженості запальних явищ і вмістом N-ацетилглюкозаміну в рогівці й сироватці крові (коефіцієнт рангової кореляції ( $r$ ) за Спірменом становить, відповідно,  $-0,63$  і  $0,81$ ;  $P < 0,05$ ), тісний зворотний зв'язок між рівнями N-ацетилглюкозаміну в рогівці та в сироватці крові ( $r = -0,81$ ;  $P < 0,05$ ).

При проникному пораненні в експериментальних тварин також відмічали зниження вмісту N-ацетилглюкозаміну в рогівці, що супроводжувалося незначним його підвищенням у сироватці крові. Як і на моделі асептичного запалення, при проведенні кореляційного аналізу було встановлено зворотний зв'язок між рівнями аміноцукру в крові й тканинах ока ( $r = 0,68$ ;  $P < 0,05$ ).

Аналогічну спрямованість динаміки ендogenous N-ацетилглюкозаміну в рогівці ока й сироватці крові відзначали і на експериментальній моделі хімічного опіку середнього ступеня. Для даної моделі характерні найбільша деструкція тканин переднього відділу ока і найбільш виражені клінічні прояви: різка сльозотеча, світлобоязнь, гіперемія кон'юнктиви і райдужки, інтенсивний набряк, а потім вира-

жене помутніння рогівки, ерозія її поверхневих шарів. Сумарна вираженість запальних явищ у перші 3 дні після опіку складала 16-18 балів. Динаміка ендogenous N-ацетилглюкозаміну на даній моделі також була більш вираженою. Порівняно з інтактними тваринами, в 1,5 раза знижувався вміст аміноцукру в рогівці, паралельно підвищуючись у крові. Через 10 днів після ушкодження клінічно зберігалися ознаки запалення, зміни з боку рогівки. Рівень N-ацетилглюкозаміну в рогівці залишався зниженим.

У світлі отриманих даних особливий інтерес представляло зіставити результати експерименту з клінічними спостереженнями: визначити вміст ендogenous N-ацетилглюкозаміну у хворих з різною офтальмопатологією, що супроводжується деструкцією і розвитком запалення в структурах переднього відділу ока. Отримані результати наведено в таблиці 1. Вони свідчать про те, що при деструктивно-запальних захворюваннях переднього відділу ока (увеїтах і кератитах неінфекційної етіології) в людей, як і у тварин з експериментальною патологією, спостерігається підвищення рівня ендogenous N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові. Як в експерименті, так і в клініці найбільший вміст N-ацетилглюкозаміну відзначається при увеїтах і хімічних опіках II-III ступенів, коли найбільш виражена деструкція сполучнотканинних структур переднього відділу ока. До моменту закінчення курсу лікування рівень N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові не перевищував показники здорових донорів. З урахуванням можливості екстраполювання даних, отриманих під час проведення експерименту на тваринах та спостереженнях на людях, наявний паралелізм динаміки ендogenous N-ацетилглюкозаміну при експериментальній і клінічній патологіях дає підставу припускати, що й у людей деструкція рогівки супроводжується зниженням вмісту в ній ендogenous N-ацетилглюкозаміну, а рівень останнього в сироватці крові певною мірою відображає ступінь цієї деструкції.

Таким чином, проведені нами дослідження показали, що при дії пошкоджувальних агентів на рогівку і розвитку внаслідок цього деструктивно-запального процесу в ній знижується вміст N-ацетилглюкозаміну. Паралельно відзначається його збільшення в сироватці крові. Між рівнями N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові й рогівці відмічається тісний зворотний кореляційний зв'язок. Динаміка вмісту N-ацетилглюкозаміну певною мірою корелює з тяжкістю патології, вираженістю клінічних проявів, але не залежить від її

Таблиця 1 – Вміст ендogenous N-ацетилглюкозаміну в структурах ока та сироватці крові при патології органа зору (ммоль/л)

Біологічний об'єкт	Умови досліджу						
	Вихідні дані (інтакт, донори)	Асептичне запалення (увеїт)		Проникне поранення		Хімічний опік I-III ступенів	
		1 день	10 днів	1 день	10 днів	1 день	10 днів
Рогівка ока кролів	0,230±0,006	0,170±0,006 P<0,05	0,21±0,02 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05	0,200±0,006 P<0,05	0,22±0,01 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05	0,150±0,003 P<0,05	0,190±0,008 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,05
Сироватка крові у кролів	5,15±0,16	7,05±0,20 P<0,05	5,43±0,26 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05	5,80±0,13 P<0,05	5,20±0,14 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05	7,60±0,23 P<0,05	5,30±0,21 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05
Сироватка крові у хворих	5,48±0,22	7,60±0,12 P<0,05	5,33±0,26 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05	6,30±0,18 P<0,05	5,50±0,14 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05	7,97±0,16 P<0,05	5,56±0,22 P>0,05 P <sub>1</sub> <0,05

Примітка. P – достовірність відмінностей, порівняно з вихідними даними;  
P<sub>1</sub> – достовірність відмінностей, порівняно з 1 днем.

характеру. Імовірно, за рахунок деструктивних процесів в ушкоджених структурах ока відбувається втрата комплексу “N-ацетилглюкозамін – білок” із переходом його в кровеносне русло, відображенням чого є підвищення рівня N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові. Спостерігаються паралелі між результатами визначення вмісту ендogenous N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові тварин з експериментальною патологією рогівки і хворих на неінфекційні деструктивно-запальні захворювання переднього відділу ока.

Одержані результати, з одного боку, дозволяють розглядати рівень N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові як “маркер” ступеня деструкції сполучнотканинних структур ока, а з іншого боку – є підставою для проведення подальших досліджень із метою розкриття потенційних можливостей використання екзогенного глюकोзаміну при захворюваннях органа зору.

**ВИСНОВКИ.** 1. Вплив пошкоджувальних агентів на рогівку ока експериментальних тварин супроводжується зниженням у ній рівня ендogenous N-ацетилглюкозаміну і паралельним збільшенням вмісту аміноцукру в крові.

2. Динаміка рівня ендogenous N-ацетилглюкозаміну корелює з динамікою клінічних проявів при експериментальних ушкодженнях рогівки, що дозволяє припускати важливу роль цього аміноцукру у розвитку даної патології.

3. Спостерігається односпрямованість динаміки ендogenous N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові тварин з експериментальною патологією і хворих на неінфекційні деструктивно-запальні захворювання переднього відділу ока.

4. Рівень N-ацетилглюкозаміну в сироватці крові може бути неспецифічним “маркером” ступеня деструкції сполучнотканинних структур ока.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бездітко Н.В. Експериментальне дослідження впливу аміноцукру глюкозаміну на перебіг хімічних опіків рогівки // Клін. фарм. – 2001. – № 1. – С. 68-72.
2. Зупанец І.А., Дрогвоз С.М. Метод определения N-ацетилглюкозамина в биологическом материале // Информац. письмо. – Харьков, 1996. – 4 с.
3. Комиссарова И.А., Нарциссов Я.Р. Основные направления развития метаболитной терапии – нового направления фармакологии // VI Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”: Тез. докл. – Москва, 1999. – С. 422.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
5. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. – М.: Мир, 1993. – Т.2. – С. 299-320
6. Прописнова В.В. Фармакологическое изучение гастропротекторных свойств аминсахаров и их производных: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Купавна, 1999. – 23 с.
7. Серова В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
8. Berman E.R. Biochemistry of the Eye. – New York: Plenum Press, 1991. – 431 p.
9. Goa K.L., Benfield P. Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophthalmology and its therapeutic potential in joint disease and wound healing // Drugs. – 1994. – 47, № 3. – P. 536-566.

10. Karamanos Y. Endo-N-acetyl-D-glucosaminidases and their potential substrates: structure/function relationships // Res-Microbiol. – 1997. – **148**, № 8. – P. 661-671.

11. Nowak A., Szczesniak L., Rychlewski T. et al. Glucosamine in serum of patients after myocardial infarction subjected to rehabilitation training // J. Physiol. Pharmacol. – 1998, **49**, № 2. – P. 293-301.

## КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПАРАЛЛЕЛИ ДИНАМИКИ ЭНДОГЕННОГО N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНА ПРИ ДЕСТРУКТИВНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНА ЗРЕНИЯ

**И.А. Зупанец, Н.В. Бездетко, И.А. Отришко**  
НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ

### Резюме

*Изучена динамика эндогенного N-ацетилглюкозамина в структурах глаза и сыворотке крови кролей на моделях асептического воспаления глаза, химического ожога и проникающего ранения роговицы, а также в сыворотке крови больных с увеитами, проникающими ранениями и ожогами роговицы. Установлено, что развитие асептического воспаления, травматического повреждения и ожог роговицы у экспериментальных животных сопровождаются снижением уровня эндогенного N-ацетилглюкозамина в тканях глаза и параллельным повышением его в крови. Динамика уровня эндогенного N-ацетилглюкозамина коррелирует с динамикой клинических проявлений экспериментальной офтальмопатологии. У больных с деструктивно-воспалительными заболеваниями переднего отрезка глаза, как и у животных с экспериментальной патологией, имеет место повышение уровня эндогенного N-ацетилглюкозамина в сыворотке крови. Полученные результаты позволяют предполагать, что и у людей деструкция соединительнотканых структур глаза сопровождается снижением содержания в них эндогенного N-ацетилглюкозамина, а уровень N-ацетилглюкозамина в сыворотке крови в определенной мере отражает степень этой деструкции.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** воспаление, гликозаминогликаны, глюкозамин.

## CLINICO-EXPERIMENTAL PARALLELS OF ENDOGENIC N-ACETYLGLUCOSAMINE DYNAMICS FOR DESTRUCTIVE-INFLAMMATORY DISEASES OF THE VISUAL ORGAN

**I.A. Zupanets, N.V. Bezdetko, I.A. Otrishko**  
NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE

### Summary

*Dynamics of endogenic N-acetylglucosamine in structures of an eye and blood serum of rabbits on models of aseptic inflammation of an eye, chemical burn and penetrating wound of a cornea, and also in blood serum of the patients with uveitis, penetrating wounds and burns of a cornea is investigated. It is established, that development of aseptic inflammation, traumatic damage and burn of a cornea at experimental animals are accompanied by decrease of a level of N-acetylglucosamine in eye tissues and its parallel increase in blood. Dynamics of a level of endogenic N-acetylglucosamine correlates with dynamics of clinical manifestations of experimental ophthalmopathy. At the patients with destructive-inflammatory diseases of a forward section of the eye, just as at an animal with experimental pathology, occurs the increase of endogenic N-acetylglucosamine level in blood serum. The obtained outcomes allow to assume, as at the people destruction of connective tissue structures of an eye is accompanied by decrease of the contents in them endogenic N-acetylglucosamine, and the level of N-acetylglucosamine in blood serum, in the certain measure, reflects a degree of this destruction.*

**KEY WORDS:** an inflammation, glycosaminoglicans, glucosamine.

Отримано 11.07.2001 р.

Адреса для листування: І.А. Зупанець, Національна фармацевтична академія України, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

## КОМПЛЕКСИ АМІЗОНУ З ГІСТАМІНОМ І АПОЕНЗИМОМ ГІСТИДИНДЕКАРБОКСИЛАЗИ В МЕХАНІЗМІ ЙОГО ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ

Т.А. Бухтіарова, Т.В. Шатиркіна, Л.С. Бобкова  
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

*За допомогою квантово-хімічних розрахунків вивчено особливості міжмолекулярної взаємодії лікарського засобу амізону з медіатором запалення гістаміном і з апоензимом гістидиндекарбоксилази. Установлено, що атом йоду відіграє вирішальну роль у стабільності вказаних комплексів. Утворення більш стійкого комплексу саме з гістаміном, порівняно з апоензимом, свідчить про те, що можливий механізм зменшення кількості гістаміну в організмі зумовлений безпосереднім зв'язуванням його молекулами амізону.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: квантово-хімічний аналіз, гістамін, неопіоїдні аналгетики.

**ВСТУП.** За сучасними уявленнями, в біохімічних механізмах дії нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) важливими є процеси, пов'язані з гістаміном, а саме пригнічення його утворення та можливість безпосередньої взаємодії з молекулами протизапального засобу. Згідно із схемою, яку розробив M.W. Whitehouse із співавторами, протизапальний засіб може конкурувати з коензимом гістидиндекарбоксилази за місцем аміногрупи лізину, що є рецепторним центром ензиму [1]. Враховуючи, що може мати місце також і антагонізм між НПЗЗ та медіаторами запалення, зокрема з гістаміном, один із механізмів пригнічення запального процесу може бути таким, як на рисунку 1.

За даними літератури, квантово-хімічні розрахунки використовують для вивчення деяких аспектів молекулярних механізмів дії протизапальних засобів [1, 3, 4]. Електронні властивості реагуючих молекул, зокрема їх здатність повністю чи частково віддавати та приймати електрони, зумовлює можливість утворення міжмолекулярних комплексів донорно-акцепторного типу.

Мета роботи полягала в теоретичному вивченні можливої участі молекул амізону в процесах як утворення медіатора запалення – гістаміну, так і безпосереднього зв'язування з ним з утворенням комплексів міжмолекулярної взаємодії.

Дослідження процесів, що призводять до зменшення кількості медіатора запалення гістаміну під впливом амізону, полягало, поперше, у проведенні й аналізі квантово-хімічних розрахунків комплексів, які можуть утворюватися за рахунок донорно-акцепторної взаємодії молекул амізону з гістаміном. Подруге, утворення гістаміну може гальмуватися на основі запропонованої вище схеми, якщо буде енергетично вигідним утворення міжмолекулярного комплексу амізону з апоензимом.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Геометрична оптимізація вихідних молекул (амізону, гістаміну, піридоксальфосфату, залишку лізину) та можливих продуктів їх взаємодії (комплексів амізону з апоензимом і гістаміном та піридоксальфосфату з апоензимом) була розрахована на ПК із використанням спеціалізованої програми "HyperChem" за методом самоузгоджуваного поля (СУП МО) за алгоритмом Паризера-Парра-Попла (ППП). Потім на основі цієї найбільш стабільної конформації для кожної молекули було розраховано її електронні та енергетичні характеристики.

Насамперед було визначено реакційні центри в ізольованих молекулах, взаємодію яких вивчали в подальшому. Інший етап роботи полягав у вивченні міжмолекулярної взаємодії амізону з гістаміном. Наступний має два напрямки: з метою отримання коректних для порівняння даних спочатку вивчали взаємодію апоензиму з піридоксальфосфатом, потім

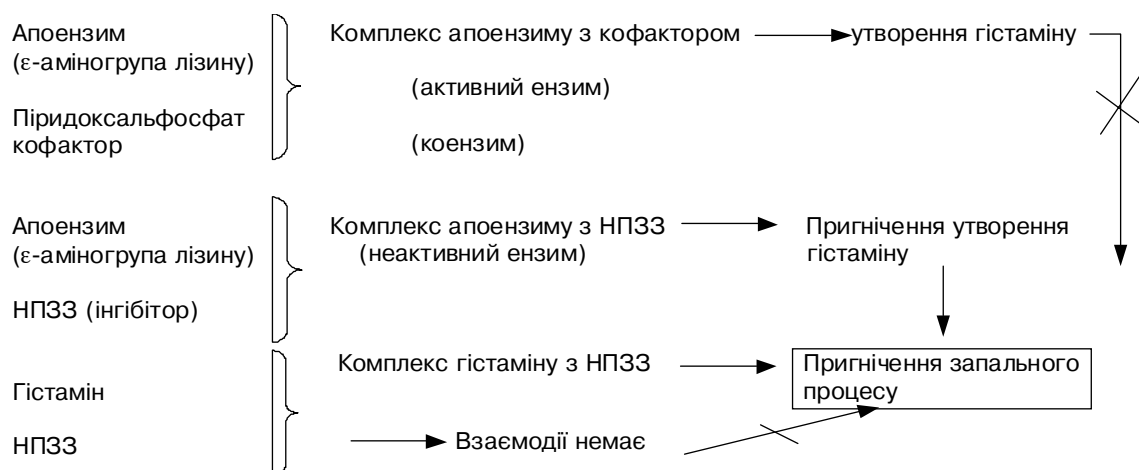


Рис. 1. Механізм пригнічення запального процесу.

визначали аналогічну конкурентну реакцію між амізеном і апоензимом. Як апоензим використовували модель, в якій білковий залишок лізину має ацильний і амінометильний замісники біля його аміно- та оксогруп відповідно (2-амідоацил-1-оксо-1-метиламіно-гексил-амін-6).

Зіставлення отриманих значень енергій (наприклад, енергій утворення зв'язків) для вихідних речовин та відповідних комплексів дає можливість визначити, який із вищезгаданих процесів на ранніх етапах запального процесу може мати місце в протизапальній дії амізону.

#### РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.

##### 1. Вивчення взаємодії амізону з гістаміном.

**Молекула амізону.** Згідно з отриманими даними, молекула амізону є полярною (дипольний момент 10,3 Д) і розподіл електронної густини в молекулі призводить до надлишку електронної щільності на атомах йоду та кисню. Величина ефективного заряду на них скла-

дає -0,90 та -0,36 електрона. Вища зайнята молекулярна орбіталь (ВЗМО) локалізована на атомі йоду і характеризується енергією -5,9 еВ (номер орбіталі 47 А) (ЗМО 46 А: -8,25 еВ). Отже, електронодонорні властивості молекули амізону насамперед пов'язані з її реакційними центрами – атомами йоду та кисню. Разом із тим, дефіцит електронної щільності має місце на таких атомах: азоту циклу, вуглецю карбонільної групи, воднів в орто-положеннях піридинового циклу та амідного фрагмента. На цих атомах локалізована нижня вільна молекулярна орбіталь (НВМО 48 А). Поляризація ковалентних зв'язків найбільша для таких пар атомів: N (циклу)-C (метил) та C<sup>2</sup>-H. Вона близька для пар C=O, N-H, C<sup>6</sup>-H. Відповідні величини ефективних зарядів на кожному атомі з виділенням ковалентних пар наведено в таблиці 1.

**Молекула гістаміну.** Для молекули гістаміну, яка порівняно з молекулою амізону, менш полярна (3,746 Д), важливими є такі характеристики циклу, як ефективні заряди:

Таблиця 1 – Значення ефективних зарядів на атомах реакційних груп молекул амізону, гістаміну і їх комплексів

Амізон						Гістамін					
пари атомів	атоми	ізолювана молекула	в комплексі			пари атомів	атоми	ізолювана молекула	в комплексі		
			к3	к5	к2				к3	к5	к2
C=O	C	0,271	0,274	0,269	0,294	N <sup>1</sup> -H	N <sup>1</sup>	0,310	0,340	0,342	0,316
	O*	-0,364	-0,345	-0,348	-0,412*		H*	0,071	0,115*	0,082	0,069
N-H	N	-0,015	-0,021	-0,115	0,001	C <sup>2</sup> -H	C <sup>2</sup>	-0,255	-0,260	-0,242	-0,276
	H	0,105	0,084	0,090	0,106		H*	0,163	0,164	0,197*	0,213*
C <sup>2</sup> -H	C <sup>2</sup>	-0,231	-0,212	-0,216	-0,024	C <sup>5</sup> -H	C <sup>5</sup>	-0,320	-0,339	-0,346	-0,336
	H	0,152	0,156	0,160	0,138		H	0,159	0,154	0,153	0,156
C <sup>6</sup> -H	C <sup>6</sup>	-0,067	-0,128	-0,113	0,159	N <sup>3</sup>	N <sup>3</sup>	-0,109	-0,125	-0,153	-0,134
	H	0,182	0,175	0,189	0,019		NH <sub>2</sub>	N	-0,049	-0,058	-0,052
N-C	C	-0,162	-0,193	-0,194	-0,157	H	H	0,026	0,024	0,020	0,022
	N	0,467	0,547	0,601	0,450		H	0,023	0,030	0,031	0,028
J	J*	-0,900	-0,847*	-0,961*	-0,760	-					

Примітка. \* – атоми, найближчі в комплексі.

на третинному азоті циклу 0,31 електрона та на атомах водню біля ближніх із ним атомів вуглецю (C2 і C5) 0,16 електрона. Нижня вільна молекулярна орбіталь (НВМО 23 А: 0,63 еВ) локалізована тільки на атомах циклу. Поляризація ковалентних зв'язків пар атомів у порядку її зменшення має таку послідовність: N-H (циклу) > C<sup>5</sup>-H (циклу) > C<sup>2</sup>-H (циклу) > N-H (аліфатичного замісника). Атоми водню імідазольного циклу проявляють тенденцію до реакцій електрофільного заміщення, утворення водневих зв'язків та донорно-акцепторних міжмолекулярних реакцій як електронodefіцитних реакційних центрів. Разом із тим, атоми вуглецю у 2, 4, 5 положеннях імідазольного циклу та первинна аміногрупа мають надлишок електронної щільності, який характеризує центри електронодонорної природи. Крім того, встановлено, що в молекулі гістаміну для біологічної активності важливим є саме імідазольний цикл [2].

**Комплекси амізону з гістаміном.** Проводили розрахунки різних комплексів: з одного боку – за участю атомів кисню та йоду амізону, з іншого – атомів водню імідазольного циклу та аміногрупи гістаміну (рис. 2, табл. 1, 2). Виявилось, що комплекси за участю атомів йоду більш стійкі й утворюються з виграшем енергії від 8 до 11 ккал/моль. Як показали розрахунки, аналогічні комплекси за участю атома кисню амізону (порівняно з вищезгаданими) є енергетично менш вигідними (в межах від 2 до 5 ккал/моль) (табл. 2). Тут простежується важлива роль іонів йоду в процесах комплексоутворення. У результаті утворення комплексів, як свідчать дані, наведені в таблиці 1, відбуваються значний

перерозподіл електронної щільності й зміна величини ефективних зарядів на реакційних центрах. Так, ефективний заряд на атомі йоду в комплексах за його участю (йод – найближчий до атомів водню молекули гістаміну атом) змінюється, тобто електронегативність зростає від -0,900 до -0,961 або зменшується до -0,847 електрона. Важливо, що в комплексі за участю атома кисню молекули амізону ефективний заряд на атомі йоду теж значно зменшується – до -0,760 електрона. Таким чином, хімічні властивості вільних молекул амізону і гістаміну та в комплексах матимуть відмінності. Це може призвести до змін у біохімічних реакціях за участю комплексу гістаміну з амізоном.

Отже, молекули амізону можуть взаємодіяти з молекулами гістаміну з утворенням міжмолекулярних комплексів, серед яких найбільш енергетично вигідними є комплекси за участю атомів йоду молекули амізону та атомів водню імідазольного кільця гістаміну.

**II. Вивчення конкурентної взаємодії амізону і піридоксальфосфату з лізиновим залишком гістидинкарбоксилази.**

**Молекула піридоксальфосфату.** Ця молекула, порівняно з молекулою гістаміну, менш полярна (дипольний момент 1,99 Д). Її ВЗМО (44А, -9,42 еВ) локалізована на атомах кисню альдегідної та гідроксильної груп, атомах вуглецю циклу і, незначною мірою, на атомі кисню оксиметильної групи, що несе фосфорильний фрагмент (5-СН<sub>2</sub>-О-Р). НВМО (45 А, -0,98 еВ), що відповідає за електроноакцепторні властивості молекули, локалізована на карбонільному (4-С=О), піридиновому фрагментах (N, 2,3,4-С) і кисні гідроксигрупи (3-ОН). Ці центри є реакційноздатними в

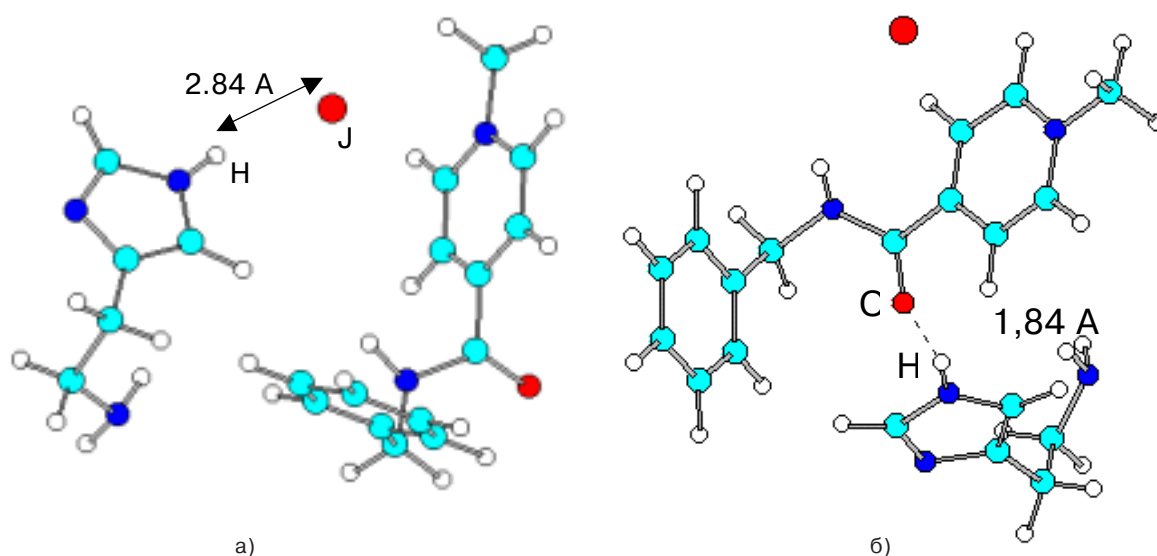


Рис. 2. Комплекси гістаміну з амізоном за місцем водню аміногрупи циклу гістаміну та атома йоду (а) і атома кисню (б) амізону.

Таблиця 2 – Основні характеристики комплексів амізону з гістаміном

Комплекс	Найближчі атоми молекул		Віддаль, А	Заряди на атомах		ВЗМО, еВ (69 А)	НСМО, еВ (70 А)	Дипольний момент, Д	Е зв., ккал/моль	Виграш енергії, ккал/моль
	амізону	гістаміну		амізону	гістаміну					
K1	Ј	Н (NH <sub>2</sub> )	4,256	-0,814	0,168	-6,295	-2,030	6,11	-5105,6	7,8
K2	О	Н (2-Н)	1,834	-0,412	0,213	-6,429	-2,223	10,56	-5102,7	4,9
K3	Ј	Н (NH)	2,837	-0,847	0,115	-6,612	-2,337	10,97	-5109,6	11,4
K4	О	Н (NH)	1,804	-0,424	0,121	-6,361	-2,543	7,71	-5099,9	2,2
K5	Ј	Н (2-Н)	2,902	-0,961	0,197	-5,989	-2,389	9,34	-5105,8	8,0

Таблиця 3 – Порівняння величин ефективних зарядів у молекулах піридоксалу і піридоксальфосфату

Молекула	Цикл					4-C=O		3-OH		5-CH <sub>2</sub> OH	
	N	C2	C3	C4	C5	C	O	O	H	C	O
П	-0,017	-0,088	0,150	-0,267	-0,060	-0,347	0,349	-0,242	0,249	0,112	-0,300
ПФ	-0,018	-0,092	0,149	-0,270	-0,062	0,350	-0,351	-0,243	0,249	0,188	-0,679

реакціях за участю s-зв'язків. Для взаємодій, які спричиняють утворення міжмолекулярних комплексів, важливими є полярність молекули та ковалентних зв'язків і, що важливо, величини зарядів на атомах. Особлива роль у реакційній здатності піридоксальфосфату відносно біохімічних перетворень належить фосфатній групі. Саме фосфорильований піридоксаль бере участь у ферментативних реакціях переамінування і декарбоксілювання амінокислот в організмі. Крім того, найбільші ефективні заряди мають місце на атомах фосфорильної групи: 2,195 (P), -0,828 (O групи P=O), -0,683, -0,659, -0,679 (O груп OH, OH, CH<sub>2</sub>-O-). Порівнявши величини зарядів на атомах, що є спільними для молекул піридоксалу і піридоксальфосфату, ми зробили висновок, що вони практично не відрізняються між собою. Виняток становить 5-оксиметильна група. Ефективний заряд на її атомі кисню – відповідно -0,300 і 0,679 електрона (табл. 3). Враховуючи ці особливості, розглядали комплекси піридоксальфосфату за місцем атома кисню фосфатної групи, який має найбільший негативний заряд.

*Апофермент: молекула лізину та модель апоферменту.* До активного центру апоферменту – білкової частини ферменту – входить

лізин. У біохімічних перетвореннях, як свідчать дані літератури, бере участь саме ε-аміногрупа лізину [1, 2, 5]. Спочатку вивчали властивості цієї аміногрупи в молекулі лізину та лізиновому фрагменті вибраної моделі апоферменту, тобто у 2-амідоацил-1-оксо-1-метиламіногексиламіні-6. Згідно з отриманими розрахунковими даними, в обох випадках ε-аміногрупа зберігає свої основні електронні властивості. Так, величини ефективних зарядів на атомах азоту та водню не змінюються, ВЗМО локалізована на δ-метиленовій та ε-аміногрупах. Дещо змінюється полярність молекул: 0,84 Д (лізин) та 1,84 Д (модель апоензиму). Серед молекул, що вивчалися, саме лізин та молекула моделі апоферменту найменш полярні.

*Комплекси амізону та піридоксальфосфату з апоферментом.* За даними літератури (Лайдер, 1958), енергія утворення ферментосубстратних комплексів досягає широкого діапазону значень, наприклад, 0,8 (хімотрипсин · бензоіл-L-тирозин (етиловий ефір)), 3,8 (хімотрипсин · метил-L-b-фенілліктат), 23,1 ккал/моль (пепсин · карбобензоксид-L-глутаміл-L-тирозин). Результати розрахунків, наведені в таблиці 4, показують, що енергія утворення досліджуваних комплексів (гістидиндекарбоксілаза · піридоксальфосфат та гісти-

Таблиця 4 – Молекулярні енергетичні характеристики комплексів апоферменту з піридоксальфосфатом і амізоном

Піридоксальфосфат, апоензим та їх комплекс		Амізон, апоензим та їх комплекс	
Об'єкт дослідження	Енергія утворення зв'язків, ккал/моль	Об'єкт дослідження	Енергія утворення зв'язків, ккал/моль
Піридоксальфосфат	-2745,05	Амізон	-3459,24
Апоензим	-3090,22	Апофермент	-3090,22
Комплекс піридоксальфосфату з апоферментом	-5836,12	Комплекс амізону з апоферментом	-6553,63
Сума енергій вихідних сполук	-5835,37	Сума енергій вихідних сполук	-6549,46
Виграш	0,75	Виграш	4,17



диндекарбоксилаза · амизон) знаходиться в зазначених межах. Отримані дані свідчать про те, що амизон може утворювати комплекс з апоферментом. При цьому величини виграшу енергії від утворення обох комплексів (модельної молекули апоферменту з амизоном і з піридоксальфосфатом) набувають значень – 4,17 та 0,75 ккал/моль відповідно.

**ВИСНОВОК.** За допомогою квантово-хімічних розрахунків вивчено особливості

міжмолекулярної взаємодії лікарського засобу амизону з медіатором запалення гістаміном та з апоензимом гістидиндекарбоксилази. Встановлено, що атом йоду відіграє вирішальну роль у стабільності зазначених комплексів. Утворення більш міцного комплексу саме з гістаміном, порівняно з апоензимом, свідчить про те, що ймовірний механізм зменшення кількості гістаміну в організмі зумовлений безпосереднім зв'язуванням його молекулами амизону.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Зіменковський Б.С., Кленіна О.В. Квантово-хімічний аналіз протизапальної активності саліцилатів // Фармац. журн. – 1999. – №6. – С. 56-61.
2. Калинин В.П., Лобов В.А., Жидков В.А. Справочник по биохимии. – К.: Наукова думка, 1971. – 1012 с.
3. Рубин Ю.В., Савин Ф.А. 6-Тиогуанин: электронная структура, межмолекулярные взаимодействия

ствия // Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей: Материалы III Всесоюз. совещ. – Черногловка, 1987. – С. 48-49.

4. Hatch F.T., Colvin M.E., Seidl E.T. Structural and quantum chemical factors affecting mutagenic potency of aminoimidazo-azarenes // Environ. and Mol. Mutagenes. – 1996. – 27, № 4. – P. 314-330.

## КОМПЛЕКСЫ АМИЗОНА С ГИСТАМИНОМ И АПОЭНЗИМОМ ГИСТИДИНДЕКАРБОКСИЛАЗЫ В МЕХАНИЗМЕ ЕГО ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

**Т.А. Бухтиарова, Т.В. Шатыркина, Л.С. Бобкова**  
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

#### Резюме

С помощью квантово-химических расчетов изучены особенности межмолекулярного взаимодействия лекарственного средства амизона с медиатором воспаления гистамином и с апоэнзимом гистидиндекарбоксилазы. Установлено, что атом йода играет решающую роль в стабильности указанных комплексов. Образование более устойчивого комплекса именно с гистамином, по сравнению с апоэнзимом, свидетельствует о том, что вероятный механизм уменьшения количества гистамина в организме обусловлен непосредственным связыванием его молекулами амизона.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** квантово-химический анализ, гистамин, неопиоидные анальгетики.

## AMIZON COMPLEXES WITH HISTAMINE AND HISTIDINE DECARBOXYLASE APOENZYME IN THEIR ANTI-INFLAMMATORY ACTION

**T.A. Bukhtiarova, T.V. Shatyrykina, L.S. Bobkova**  
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, KYIV

#### Summary

Intramolecular interactions of amizon with histamine as a mediator of inflammation and a apoenzyme histidine decarboxylase were studied using quantum-chemical calculations. It was shown that a iodine atom played a crucial role in stability of the studied complexes. The formation of a more stable complex with histamine as compared to apoenzyme indicates that the direct binding of histamine with the amizon molecules is a likely mechanism for histamine depletion in a body.

**KEY WORDS:** quantum-chemical analysis, histamine, non-opioid analgetics.

Отримано 28.05.2001 р.

**Адреса для листування:** Т.А. Бухтиарова, ІТФ АМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03057, Україна.

## АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ І ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У НОРМАЛЬНИХ І ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИНАХ У КУЛЬТУРІ

О.І. Вовк, Т.А. Афонюшкін, Л.Б. Дробот, М.М. Великий  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ НАН УКРАЇНИ, ЛЬВІВ

*Проведено порівняльний аналіз активності ферментів антиоксидного захисту (АОЗ) псевдонормальних (N1H 3T3) та трансформованих (L 929) клітин у культурі. Показано, що для трансформованих клітин, порівняно із псевдонормальними, характерними є нижчий рівень активності супероксиддисмутази (СОД), каталази і глутатіонпероксидази та вищий рівень активності глутатіонредуктази. Досліджено вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – малонового діальдегіду (МДА) та 4-гідроксиноненалу (4-ГНН) – у клітинах ліній N1H 3T3 та L 929 за умов їх обробки пероксидом водню. Встановлено, що клітини лінії L 929 більш стійкі до впливу оксидативного стресу. Виявлені закономірності узгоджуються зі змінами внутрішньоклітинного вмісту МДА та 4-ГНН.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антиоксидний захист, перекисне окиснення ліпідів, оксидативний стрес.

ВСТУП. Згідно із сучасними уявленнями, вільнорадикальні процеси і регуляція їх рівня біоантиоксидантами відіграють суттєву роль за умов канцерогенезу і злоякісного росту. Стаціонарний рівень активних кисневих метаболітів (АКМ) у тканинах підтримується за рахунок тонкої регуляції з боку ферментативних і неферментативних систем АОЗ [4, 13]. Порушення скоординованості безперервної регенерації захисних систем призводить до виникнення і накопичення окиснювальних пошкоджень, що супроводжують ряд фізіологічних і патофізіологічних феноменів та процесів, таких, як старіння, канцерогенез тощо [10, 17].

Оскільки неопластична трансформація характеризується суттєвими порушеннями регуляції метаболізму, ми провели порівняльний аналіз активності ферментів АОЗ та вмісту продуктів ПОЛ у нормальних і трансформованих клітинах у культурі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експериментах використовували ембріональні фібробласти миші лінії N1H 3T3 та клітини фібросаркоми миші лінії L 929, отримані з колекції клітинних культур Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології (Київ, Україна). Клітини культивували в середовищі Ігла,

© О.І. Вовк, Т.А. Афонюшкін, Л.Б. Дробот – к.б.н., М.М. Великий – д.б.н., проф., 2001.

модифікованому Дюльбекко ("Sigma", США), що містило 10 % ембріональної телячої сироватки ("Сангва", Україна), 2 мМ L-глутамін, 50 мкг/мл гентаміцину в зволоженій атмосфері з 5 % CO<sub>2</sub> при температурі 37 °С. Усі експерименти проводили на несинхронізованих клітинах. Оксидативний стрес викликали шляхом внесення пероксиду водню в культуральне середовище. Необхідну для проведення експерименту кількість клітин висівали в середовище культивування (5×10<sup>5</sup> клітин/мл) та інкубували з H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> протягом доби. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> було отримано у вигляді 30 % розчину, його ефективну концентрацію визначали перед кожним експериментом шляхом вимірювання оптичного поглинання розведеного розчину при 240 нм. Інтенсивність росту клітинної культури оцінювали, підраховуючи кількість клітин у камері Горяєва. Для оцінки цілісності мембран та життєздатності клітин застосовували забарвлення 0,1 % трипановим синім.

Контрольні та індуковані H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> клітини двічі промивали охолодженим забуференим фізіологічним розчином (137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 4,3 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,4 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, рН-7,3) і лізували на льодовій бані в буфері, що містив 10 мМ тріс-НCl (рН-7,5), 150 мМ NaCl, 0,25 % Тритон X-100, 5 мМ EDTA, 50 мМ NaF, 1 мМ Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 5 мМ бензамідин, 10 мкг/мл апротиніну ("Sigma", США), 10 мкг/мл лейпептину

("Sigma", США), 1 мкг/мл пепстатину ("Fluka", Швейцарія), 1 мМ фенілметансульфонілфторид ("Fluka", Швейцарія), протягом 20 хв. Детергент-нерозчинну фракцію осаджували центрифугуванням при 12000 об./хв протягом 15 хв. Концентрацію білка в супернатантах визначали за методом Петерсона.

Активність СОД (КФ 1.15.1.1) визначали методом, який ґрунтується на відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами [9]. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) – за швидкістю розщеплення перекису водню. Активність глутатіонредуктази (КФ 1.6.4.2) визначали за зниженням вмісту NADPH [5]. Глутатіонпероксидазну активність (КФ 1.11.1.9) – за допомогою методу, в основі якого лежить розвиток кольорової реакції внаслідок взаємодії SH-груп з реактивом Елмана [6]. Активність ферментів у клітинах досліджуваних ліній розраховували на 1 мг білка. Вміст продуктів ПОЛ (МДА+4-ГНН) визначали згідно з методикою Н. Esterbauer [12]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням прикладної комп'ютерної програми "Statistica".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У процесі еволюції в клітинах для захисту від АКМ виробились спеціалізовані системи ферментативних антиоксидантів, до яких належать СОД, каталаза, глутатіонзалежні пероксидази і трансферази, які послідовно відновлюють супероксид,  $H_2O_2$  і органічні гідроперекиси. GSH, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, глутатіонредуктаза і NADPH утворюють глутатіонову антипероксидну систему, в якій глутатіонредуктаза і NADPH необхідні для відновлення окисненого глутатіону. Глутатіонова антипероксидна система ефективно захищає клітину від оксидативного стресу, й у звичайних умовах тільки при вичерпанні або недостатності її дії виникають серйозні пошкодження [2, 3].

Результати наших досліджень показали, що трансформовані клітини L 929 характеризуються більш низьким рівнем активності СОД і каталази, порівняно з нормальними

фібробластами (табл. 1). Зміни активності ферментів можуть бути результатом молекулярних порушень у ділянці активного центру, зокрема окиснення сірковмісних амінокислотних залишків, зміни валентності металу тощо. Значне інгібування активності ферментів АОЗ, зокрема гальмування експресії Cu,Zn-СОД та каталази, продемонстровано для ряду ліній пухлинних клітин, а також у процесах ініціації та розвитку канцерогенезу [14, 16, 17].

Вивчення показників глутатіонового ланцюга АОЗ показало, що для клітин L 929 характерною є значно вища активність глутатіонредуктази, порівняно з клітинами NIH 3T3 (табл. 1). Виявлений високий рівень активності глутатіонредуктази може бути пов'язаний із збільшеною потребою у відновленому глутатіоні в активно проліферуючих клітинах [11].

Вважають, що оксидативні пошкодження є важливим фактором в дегенеративних процесах при старінні та у етіології багатьох захворювань, включаючи канцерогенез та атеросклероз. Детально досліджено молекулярні аспекти регуляції клітинної відповіді на оксидативний стрес у бактеріях. Описано регулони оху R та сох RS, залучені до забезпечення резистентності до  $H_2O_2$  і супероксидного аніона [4, 11]. Однак сигнальні шляхи, які опосередковують регуляцію експресії генів оксидантами та стійкість до оксидативних пошкоджень у клітинах ссавців, залишаються менш з'ясованими.

Під час дослідження стійкості клітин ліній NIH 3T3 та L 929 до оксидативного стресу, викликаного перекисом водню, концентрація якого зростає, було виявлено суттєві відмінності між нормальними і трансформованими клітинами. Проведені на клітинах лінії L 929 експерименти, показали таку схему відповіді на дію екзогенного перексиду водню: низька концентрація (5-25 мкмоль) стимулювала клітинний ріст на 20-25 %; проміжна (25-50 мкмоль) викликала тимчасову зупинку росту; висока концентрація (понад 50 мкмоль) зупиняла ріст та призводила до руйнування і загибелі клітин. Стійкість клітин лінії NIH 3T3 за умов експериментального оксидативного

Таблиця 1 – Активність ферментів АОЗ у нормальних і трансформованих клітинах (M±m, n=4-6)

Показники	Досліджувані лінії клітин	
	NIH 3T3	L 929
Супероксиддисмутаза, ум.од./мг білка	5,3±0,4	2,2±0,3*
Каталаза, мкмоль $H_2O_2$ за 1 хв на 1 мг білка	196,6±4,7	79,6±2,1*
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH за 1 хв на 1 мг білка	122,5±2,1	115,9±1,9
Глутатіонредуктаза, нмоль NADPH за 1 хв на 1 мг білка	27,0±0,9	41,9±1,5*

Пріітка. \* – достовірні зміни, порівняно з показниками нормальних клітин,  $p < 0,05$ .

стресу була нижчою, порівняно з трансформованими.

Таким чином, при низькій концентрації  $H_2O_2$  ми спостерігали стимуляцію клітинного росту (для псевдонормальних клітин стимулювальною була концентрація 1-5 мкМ, тоді як для трансформованих клітин вона складала 5-25 мкМ  $H_2O_2$ ). Як відомо з літературних джерел, багато типів клітин ссавців генерують  $H_2O_2$  в концентрації цього діапазону, тому пероксид водню при низькій концентрації можна розглядати як фактор, залучений до регуляції росту та проліферації [0].

Виявлені закономірності узгоджуються зі змінами внутрішньоклітинного вмісту ПОЛ. При визначенні вмісту МДА та 4-ГНН у клітинах ліній NIH 3T3 та L 929 за умов їх обробки перекисом водню різної концентрації виявлено односпрямований, але дещо різний за ступенем виявлення профіль вільнорадикальних процесів. У псевдонормальних клітинах значне накопичення продуктів ПОЛ спостерігалось при збільшенні концентрації  $H_2O_2$  від 10 до 25 мкмоль, тоді як у трансформованих клітинах – при концентрації понад 25 мкмоль (рис. 1). Механізм гальмування процесів ПОЛ за умов пухлинного росту може полягати в суттєвих змінах фізико-хімічних характеристик та складу біологічних мембран, перш за все, в зменшенні вмісту ненасичених жирних кислот та відносному збагаченні насиченими жирними

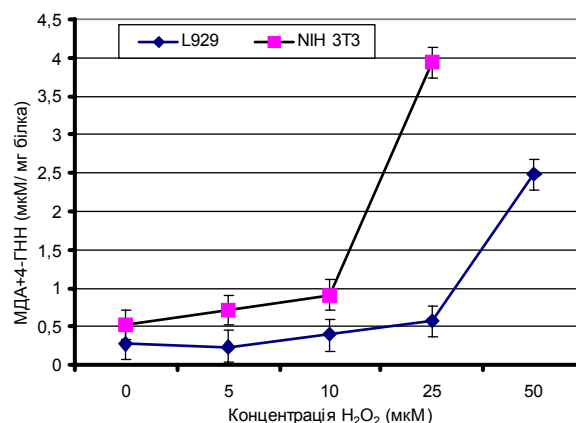


Рис. 1. Вміст продуктів ПОЛ у нормальних і трансформованих клітинах.

кислотами з низькою здатністю до спонтанного чи індукованого окиснення [7, 8].

**ВИСНОВКИ.** 1. Біохімічні критерії оцінки стану процесів пероксидації ліпідів свідчать про нижчу інтенсивність процесів ПОЛ у трансформованих клітинах лінії L 929, порівняно із псевдонормальними фібробластами, та їх вищу резистентність до оксидативного стресу, викликаного перекисом водню.

2. Виявлені відмінності в активності ферментів АОЗ у нормальних і трансформованих клітинах у культурі свідчать про суттєву роль цих ферментів у неопластичній трансформації клітин.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Методы определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
2. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Усп. соврем. биол. – 1990. – **110**, № 1. – С. 20-23.
3. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы // Усп. соврем. биол. – 1993. – **113**, № 1. – С. 107-120.
4. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Усп. соврем. биол. – 1993. – **113**, № 4. – С. 442-455.
5. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд. Ленинградского у-та, 1982. – 181 с.
6. Моин В.М. Простой и специфический метод

определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 2. – С. 724-727.

7. Пынзарь Е.И., Пальмина Н.П. Кинетические характеристики спонтанного перекисного окисления липидов в биологических мембранах нормальных и опухолевых клеток // Биол. мембр. – 1998. – **15**, №2. – С. 191-198.

8. Сидорик Е.П., Баглей Е.А., Данко М.И. Биохимическая люминесценция клеток при опухолевом процессе. – К.: Наукова думка, 1989. – 220 с.

9. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9-13.

10. Berlett B.S., Stadtman E.R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress // J. Biol. Chem. – 1997. – **272**, № 33. – P. 20313-20316.

11. Burdon H.R. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation // Free Rad. Biol. Med. – 1995. – **18**, № 4. – P. 775-794.
12. Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes // Free Rad. Biol. Med. – 1991. – № 11. – P. 81-128.
13. Fridovich I. Superoxide anion radical, superoxide dismutases and related matters // J. Biol. Chem. – 1997. – **272**, № 30. – P. 18515-18517.
14. Grigolo B., Lisignoli G., Toneguzzi S. et al. Copper/zink superoxide dismutase expression by different human osteosarcoma cell lines // Anticancer Res. – 1998. – **18** (2A). – P. 1175-1180.
15. Peterson G.L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable // Anal. Biochem. – 1977. – **83**, № 2. – P. 346-356.
16. Rohrdanz E, Kahl R. Alterations of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide // Free Rad. Biol. Med. – 1998. – **24**, № 1. – P. 27-38.
17. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis // Free Rad. Biol. Med. – 1990. – **8**, № 6. – P. 583-599.

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДНОЙ ЗАЩИТЫ И УРОВЕНЬ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В НОРМАЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ В КУЛЬТУРЕ

**Е.И. Вовк, Т.А. Афонюшкин, Л.Б. Дробот, Н.Н. Великий**  
 ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ НАН УКРАИНЫ, ЛЬВОВ

### Резюме

Проведен сравнительный анализ активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) псевдонормальных (NIH 3T3) и трансформированных (L 929) клеток в культуре. Показано, что трансформированные клетки, по сравнению с псевдонормальными, характеризуются более низким уровнем активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы и более высоким уровнем активности глутатионредуктазы. Определено содержание продуктов перекисного окисления (ПОЛ) – малонового диальдегида (МДА) и 4-гидроксиноненаля (4-РНН) – в клетках линий NIH 3T3 та L 929 при обработке их перекисью водорода, концентрация которого возрастает. Установлено, что клетки линий L 929 более стойкие к влиянию оксидативного стресса. Выявленные закономерности согласуются с изменениями внутриклеточного содержания МДА и 4-ГНН.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **антиоксидантная защита, перекисное окисление липидов, оксидативный стресс.**

## ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES AND LIPID PEROXIDATION LEVEL IN NORMAL AND TRANSFORMED CELLS IN CULTURE

**O.I. Vovk, T.A. Afonyushkin, L.B. Drobot, N.N. Velyky**  
 INSTITUTE OF CELL BIOLOGY OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, LVIV

### Summary

Antioxidant enzyme activities in pseudonormal (NIH 3T3) (embryonic mouse fibroblasts) and transformed (L 929) (mouse fibrosarcoma) cells have been studied. The lower activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase as well as higher glutathione reductase activity in L 929 as compared with NIH 3T3 cells were observed. It was found that L 929 cells were more resistant to oxidative stress caused by increasing hydrogen peroxide concentrations. Obtained data are correlated with changes in intracellular level of malondialdehyde in combination with 4-hydroxyalkenals, which has been used as an indicator of lipid peroxidation.

KEY WORDS: **antioxidant protection, lipid peroxidation, oxidative stress.**

Отримано 9.08.2001 р.

Адреса для листування: О.І. Вовк, вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна.

## НЕОНАТАЛЬНИЙ ГІПОТИРЕОЗ І ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЯ: ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

О.Л. Кухарчук, Н.К. Зальцман  
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*В експериментах на 16 білих щурах-самках і 76 щуренятах обох статей показано, що в нащадків щурів-самок, які під час вагітності та (або) лактації отримували малі дози хлоридних сполук кадмію, талію і свинцю, за неонатального гіпотиреозу в тканинах серця, печінки і нирок підвищується інтенсивність перекисного окиснення ліпідів і відбувається пригнічення активності антиоксидних ферментів. Раннє і тривале застосування трийодтироніну ефективно коригує ускладнення неонатального гіпотиреозу, що характеризується нормалізацією про- та антиоксидного потенціалів у серці, печінці й нирках.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** важкі метали, вагітність, новонароджені, тиреоїдні гормони, ліпопероксидація, антиоксидні ферменти.

ВСТУП. В останні роки зростає екологічне навантаження на організм людини, що зумовлено забрудненням навколишнього середовища ксенобіотиками, зокрема важкими металами [7]. Відомо, що за умов екологічного неблагополуччя розвивається синдром енергопластичного дефіциту, який характеризується пригніченням процесів фізіологічної репаративної регенерації тканин і призводить до ушкодження багатьох органів і систем організму [10]. З іншого боку, відомо, що тиреоїдні гормони регулюють енергопластичні процеси, впливають на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, агрегатний стан крові, синтез білка та функціональний стан життєво важливих органів [15].

Доведено, що пре- та післянатальне ендокринне забезпечення плода та новонародженої дитини здійснюється гормонами матері, відповідно трансплацентарним і лактогенним шляхами [13]. Водночас показано, що у жінок, які мешкають у районах екологічного забруднення та регіонах зобної ендемії, протягом II і на початку III триместрів вагітності розвиваються гіпотиреоїдні стани, що суттєво впливають на розвиток плода і новонародженої дитини [8].

Однак проблема екозалежності неонатального гіпотиреозу вивчена недостатньо, особливо такі її аспекти, як зміни в системах ферментативного антиоксидного захисту і

ліпопероксидації в новонароджених з дефіцитом тиреоїдних гормонів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** В експериментах на 10 білих щурах-самках і 40 щуренятах обох статей використовували порогові дози хлоридів талію, кадмію і свинцю (надалі "ВМ" – важкі метали) – відповідно 0,5, 0,05 та 0,5 мг/кг маси тіла [3]. У зазначених дозах ВМ вводили щоденно внутрішньошлунково 3-м групам щурів: під час вагітності (із сьомої доби), під час лактації, під час вагітності і лактації. Трийодтиронін (Liothyronin, "Берлін-Хема") вводили внутрішньошлунково з п'ятої по тридцятьу добу життя щуренят у дозі 10 мкг/кг щоденно [14]. Контрольну групу склали 6 самок та 11 їх щуренят обох статей.

Вміст у крові тиреоїдних гормонів визначали радіоімунологічно – за допомогою наборів реактивів "РІО-Т<sub>3</sub>-ПГ" та "РІО-Т<sub>4</sub>-ПГ" (Білорусь).

Активність супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] визначали за методом С. Чеварі та співавт. [19], каталази (КТ) [КФ 1.11.1.6] – за М.А.Королюком та співавт. [9], глутатіонпероксидази (ГПО) [КФ 1.11.1.9] – за методикою І.Ф. Мецишена [12], рівень дієнових кон'югат (ДК) – за методом В.Б. Гаврилова, М.І. Мішкорудної [5], малонового діальдегіду (МДА) – за методикою І.Д. Стальної, Т.Г. Гарішвілі [18].

© О.Л. Кухарчук – д.м.н., проф., Н.К. Зальцман, 2001.

Результати досліджень опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента за програмою "Bio-stat" [6].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вивчення впливу шкідливих екологічних чинників на вміст у крові тиреоїдних гормонів показало, що в щурів, які отримували ВМ під час вагітності, рівень  $T_3$  у плазмі крові знижувався на 30,3 % ( $(3,83 \pm 0,18)$  нмоль/л у контролі та  $(2,67 \pm 0,23)$  нмоль/л у досліді,  $p < 0,01$ ;  $n = 16$ ),  $T_4$  – на 36,2 % ( $(169,40 \pm 16,34)$  та  $(108,10 \pm 9,92)$  нмоль/л відповідно,  $p < 0,01$ ;  $n = 16$ ). У разі навантаження самок ВМ під час вагітності й лактації плазматичний рівень тиреоїдних гормонів досягав мінімальних величин:  $T_3$  –  $(1,86 \pm 0,10)$  нмоль/л ( $p < 0,001$ ;  $n = 16$ ),  $T_4$  –  $(104,30 \pm 6,56)$  нмоль/л ( $p < 0,01$ ;  $n = 16$ ). Навіть у щурів, які отримували ВМ тільки під час лактації, виявляли зниження концентрацій у плазмі крові  $T_3$  і  $T_4$ , які складали, відповідно,  $(3,13 \pm 0,13)$  нмоль/л ( $p < 0,01$ ;  $n = 16$ ) та  $(141,60 \pm 12,31)$  нмоль/л ( $p > 0,05$ ;  $n = 16$ ).

У нащадків самок, які одержували ВМ під час вагітності, концентрація в плазмі крові  $T_3$  була на 22,8 % нижчою за контрольний рівень ( $(1,66 \pm 0,15)$  та  $(2,15 \pm 0,17)$  нмоль/л відповідно;  $p < 0,05$ ;  $n = 20$ ), а плазматичний вміст  $T_4$  – на 29,8 % меншим, ніж у щуренят контрольної групи ( $(15,06 \pm 1,76)$  та  $(21,46 \pm 1,34)$  нмоль/л відповідно;  $p < 0,01$ ;  $n = 20$ ). Найвищий ступінь гіпотиреозу спостерігали в щуренят, що народилися від самок, яким ВМ вводили в періоди вагітності й лактації: концентрація  $T_3$  в плазмі крові була меншою за контроль в 1,9 раза ( $(1,15 \pm 0,10)$  нмоль/л;  $p < 0,001$ ;  $n = 20$ ),  $T_4$  – в 1,3 раза ( $(16,24 \pm 1,22)$  нмоль/л;  $p < 0,01$ ;  $n = 20$ ). Вміст  $T_3$  в плазмі крові у нащадків самок, які отримували ВМ тільки в період лактації, також знижувався на 31,6 % ( $(1,47 \pm 0,13)$  нмоль/л;  $p < 0,01$ ;  $n = 21$ ), але плазматичний рівень тироксину зростав на 80,6 % і був максимальним серед усіх дослідних груп ( $(38,75 \pm 2,49)$  нмоль/л;  $p < 0,001$ ;  $n = 21$ ). Тиреоїдний індекс ( $T_4/T_3$ ) достовірно зростав у тварин двох останніх груп ( $(14,12 \pm 0,63)$  та  $(26,36 \pm 1,46)$  ум. од. відповідно; у контролі –  $(9,98 \pm 0,79)$  ум. ом.;  $p < 0,001$ ;  $n = 20, 21$ ).

У нащадків щурів, які отримували ВМ під час вагітності, вміст ДК у міокарді зростав на 19,3 % ( $(0,322 \pm 0,022)$  нмоль/г білка в контролі та  $(0,384 \pm 0,014)$  нмоль/г білка в досліді;  $p < 0,05$ ;  $n = 22$ ), однак рівень МДА в тканині серця не змінювався ( $(0,305 \pm 0,022)$  та  $(0,314 \pm 0,017)$  нмоль/г білка відповідно;  $p > 0,05$ ;  $n = 22$ ). У щуренят, матері яких зазнавали

впливу ВМ під час вагітності й лактації, спостерігали підвищення кількості продуктів ПОЛ у міокарді: ДК – на 23,0 % ( $(0,396 \pm 0,018)$  нмоль/г білка;  $p < 0,05$ ;  $n = 22$ ), МДА – на 20,0 % ( $(0,366 \pm 0,021)$  нмоль/г білка;  $p < 0,05$ ;  $n = 22$ ). У разі навантаження ВМ лактуючих самок вміст ДК у серцевому м'язі їх нащадків зростав на 21,7 % ( $(0,392 \pm 0,021)$  нмоль/г білка;  $p < 0,05$ ;  $n = 22$ ) без достовірних змін кількості МДА ( $(0,359 \pm 0,025)$  нмоль/г білка;  $p > 0,05$ ;  $n = 22$ ). Після введення  $T_3$  нащадкам щурів, які під час вагітності зазнавали впливу важких металів, вміст у серці ДК ( $(0,261 \pm 0,025)$  нмоль/г білка;  $n = 7$ ) і МДА ( $(0,271 \pm 0,023)$  нмоль/г білка;  $n = 7$ ) відповідав контрольним величинам, так само, як і в щуренят, матері яких отримували хлористі сполуки кадмію, талію і свинцю під час вагітності та (або) лактації.

Активність ферментів протирадикального захисту (табл. 1) суттєвих змін не зазнавала, за винятком активності ГПО, яка була меншою за контроль у нащадків щурів, які отримували ВМ під час лактації або вагітності й лактації, на 9,4 і 10,8 % відповідно. При введенні ліотироніну нащадкам самок із комплексним металотоксикозом у серцевому м'язі відбувалася нормалізація інтенсивності ПОЛ, активності СОД і КТ при недостовірному збільшенні активності ГПО, що свідчить про відновлення антиоксидного потенціалу в міокарді.

У тканині печінки вміст ДК і МДА значно зростав у нащадків щурів, які отримували ВМ під час вагітності та (або) лактації. Активність СОД достовірних змін не зазнавала, тоді як активність КТ і ГПО достовірно знижувалася. Зменшення вмісту в печінці продуктів ліпопероксидації та відновлення нормальної активності СОД і КТ відбувалися після введення щуренят  $T_3$ , але активність ГПО залишалася меншою за таку в тварин контрольної групи.

У кортикальній тканині нирок щуренят усіх трьох груп максимально активувались процеси ліпопероксидації, про що свідчило накопичення в кірковій речовині ДК і МДА, вміст яких значно перевищував контрольні показники. Водночас спостерігалось суттєве зниження активності ферментів протирадикального захисту. Прооксидний потенціал у нирках щуренят був настільки високим, що навіть тривале введення  $T_3$  не призводило до нормалізації вмісту в кортикальній тканині ДК ( $(0,082 \pm 0,006)$  нмоль/г білка в контролі та  $(0,119 \pm 0,007)$  нмоль/г білка в досліді;  $p < 0,001$ ;  $n = 21$ ) і МДА ( $(0,103 \pm 0,008)$  та  $(0,138 \pm 0,010)$  нмоль/г білка відповідно;  $p < 0,02$ ;  $n = 21$ ). При цьому активність СОД і ГПО відповідала контрольним величинам, тоді як

активність КТ залишалася меншою за такі на 10,5-11,5 %.

Відомо, що слабка активація вільнорадикальних реакцій у плазматичній мембрані клітин у відповідь на зовнішній подразник змінює окисно-відновний стан рецептора на її поверхні. Цей сигнал перетворюється в ланцюг біохімічних реакцій, що призводить до активації генетичного апарату і біосинтезу ряду регуляторних, транспортних та інших білків, які сприяють підвищенню стійкості до дії ушкоджувальних факторів. Проте існують певні межі активації вільнорадикальних реакцій, перевищення яких не тільки призводить до запуску редокс-сигнальної системи, але й індукує ушкодження клітин [2]. Показано, що вільнорадикальні процеси в сироватці крові новонароджених перебігають інтенсивніше, ніж у дорослих, з підвищеним утворенням первинних продуктів ПОЛ (дієнових і трієнових кон'югат) при збільшенні загальної антиоксидантної ємності крові та активності супероксиддисмутази. У недоношених дітей інтенсивність ліпопероксидації значно зростає і не компенсується системами антиоксидантного захисту [4]. Адаптацію до відносної гіпероксії після

народження дітей перш за все забезпечують СОД, КТ і ГПО, стабільна активність яких формується впродовж останніх місяців внутрішньоутробного розвитку. На третю добу життя зростає роль глутатіону, що надалі супроводжується зниженням вмісту в крові МДА. Наприкінці раннього неонатального періоду становлення антиоксидантної системи крові у здорового доношеного новонародженого завершується [16].

У щуренят із неонатальним гіпотиреозом, що народилися від матерів, які під час вагітності та (або) лактації зазнавали впливу ВМ, компенсаторна реакція з боку ферментів протирадикального захисту практично відсутня. У літературі є повідомлення, що хлоридні сполуки талію, свинцю, кадмію і ртуті викликають активацію ПОЛ при пригніченні активності СОД, КТ і ГПО [11], тоді як тиреоїдні гормони є природними антиоксидантами [17]. Варто зазначити, що забезпечення новонародженої дитини тиреоїдними гормонами залежить від рівня лактації матері [1]. Результати нашого дослідження впливу ліотироніну на про- та антиоксидантний потенціали в життєво важливих органах свідчать про

Таблиця 1 – Дія ліотироніну на активність супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази в тканинах серця, печінки і нирок щуренят, матері яких під час вагітності та (або) лактації зазнавали впливу хлоридних сполук кадмію, талію і свинцю ( $\bar{x} \pm Sx$ )

Групи тварин	Міокард			Печінка			Нирка		
	СОД, од/г білка за 1 хв	КТ, мкмоль Н <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /г білка за 1 хв	ГПО, мкмоль GSH/г білка за 1 хв	СОД, од/г білка за 1 хв	КТ, мкмоль Н <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /г білка за 1 хв	ГПО, мкмоль GSH/г білка за 1 хв	СОД, од/г білка за 1 хв	КТ, мкмоль Н <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /г білка за 1 хв	ГПО, мкмоль GSH/г білка за 1 хв
Контроль, n=11	0,673±0,027	39,00±0,64	1,011±0,030	0,741±0,033	32,19±0,75	1,262±0,096	0,917±0,036	48,21±1,75	1,319±0,085
Нашадки самок, які отримували ВМ під час вагітності, n=11 (1-а група)	0,714±0,011	39,59±0,50	0,990±0,032	0,760±0,041	35,46±0,98 p<0,02	1,275±0,098	0,825±0,039	44,62±1,38	1,103±0,052 p<0,05
Нашадки самок, які отримували ВМ під час вагітності й лактації, n=11 (2-а група)	0,723±0,016	41,01±0,88	0,902±0,036 p<0,05	0,715±0,030	28,71±0,84 p<0,01 p <sub>1,2</sub> <0,001	0,896±0,041 p<0,01 p <sub>1,2</sub> <0,01	0,711±0,032 p<0,001 p <sub>1,2</sub> <0,05	37,44±1,18 p<0,001 p <sub>1,2</sub> <0,001	0,910±0,043 p<0,001 p <sub>1,2</sub> <0,02
Нашадки самок, які отримували ВМ під час лактації, n=11 (3-я група)	0,705±0,018	41,03±0,98	0,916±0,033 p<0,05	0,739±0,028	30,55±1,06 p <sub>1,3</sub> <0,01	0,912±0,037 p<0,01 p <sub>1,3</sub> <0,01	0,707±0,028 p<0,001 p <sub>1,3</sub> <0,05	36,50±0,94 p<0,001 p <sub>1,3</sub> <0,001	0,892±0,042 p<0,001 p <sub>1,3</sub> <0,01
Введення ліотироніну нащадкам самок, які отримували ВМ під час вагітності і лактації, n=8 (4-а група)	0,696±0,032	40,38±1,19	0,976±0,045	0,788±0,039	34,56±0,95 p <sub>2,4</sub> <0,001	0,987±0,043 p<0,05	0,830±0,038 p <sub>2,4</sub> <0,02	42,65±1,24 p<0,05 p <sub>2,4</sub> <0,01	1,177±0,060 p <sub>2,4</sub> <0,01
Введення ліотироніну нащадкам самок, які отримували ВМ під час лактації, n=10 (5-а група)	0,715±0,036	38,42±1,28	1,040±0,033 p <sub>3,5</sub> <0,02	0,752±0,034	33,61±0,89	1,015±0,050 p<0,05	0,841±0,035 p <sub>3,5</sub> <0,01	43,11±1,18 p<0,05 p <sub>3,5</sub> <0,001	1,182±0,063 p <sub>3,5</sub> <0,001

Примітка. p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p<sub>1,2</sub>, p<sub>2,4</sub>, p<sub>3,5</sub> – ступінь достовірності різниць показників у відповідних групах тварин; n – кількість спостережень.



те, що порушення цих процесів у щуренят із неонатальним гіпотиреозом, індукованим комплексним токсичним ефектом хлоридних сполук ВМ на організм вагітної і лактуючої самки-матері, ефективно коригується в разі ранньої і тривалої замісної гормональної терапії.

ВИСНОВКИ. 1. У нащадків щурів-самок, які під час вагітності та (або) лактації отримували малі дози хлоридних сполук кадмію, талію і

свинцю, зниження вмісту в крові тиреоїдних гормонів асоціюється з підвищенням інтенсивності ПОЛ при пригніченні активності ферментів антиоксидного захисту.

2. Раннє і тривале застосування ліотироніну в нащадків щурів-самок, які під час вагітності й лактації зазнавали хронічної інтоксикації хлоридними сполуками кадмію, талію і свинцю, нормалізує про- та антиоксидний потенціали у тканинах серця, печінки і нирок.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Алиев М.Г., Мовсун-Заде Ф.П., Рагимова Ш.А. Содержание гормонов гипофизарно-тиреоидной системы в крови и молоке женщин с разным уровнем лактации // *Вопр. охр. матер. и детства*. – 1990. – № 2. – С. 55-58.

2. Архіпенко Ю.А. Редокс-сигналізація як основа підвищення резистентності клітин при адаптації до дії факторів зовнішнього середовища // *Фізіол. журн.* – 2000. – **46**, № 2 (додаток). – С. 110-112.

3. Бойчук Т.М. Хроноритмологічні аспекти патогенної дії на організм малих доз важких металів: Автореф. дис.... д-ра мед. наук. – К., 1999. – 32 с.

4. Бурмистров С.О., Дубинина Е.Е., Арутюнян А.В. Перекисное окисление липидов, белков и активность антиоксидантной системы сыворотки крови новорожденных и взрослых // *Акуш. и гинекол.* – 1997. – № 6. – С. 36-40.

5. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // *Лаб. дело*. – 1983. – № 3. – С. 33-36.

6. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

7. Длин В.В., Османов И.М., Юрьева Э.А. и др. Эффективность энтеросорбентов при лечении нефропатий у детей из региона, загрязненного солями тяжелых металлов // *Педиатр.* – 1998. – № 2. – С. 63-66.

8. Искрицкий А.М., Сорокина С.Э. Функциональное состояние тиреоидной системы у беременных женщин, рожениц и родильниц Беларуси // *Пробл. эндокринол.* – 1997. – **43**, № 6. – С. 20-22.

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

10. Кухарчук О.Л., Кокощук Г.І., Магальяс В.М. та ін. Біохімічні механізми нефротоксичної дії важких металів // *Наук. вісн. Чернівецьк. нац. ун-ту. Серія: Біологія*. – 1998. – Вип. 20. – С. 23-28.

11. Кухарчук О.Л., Руденко С.С., Бойчук Т.М. та ін. Стан загального коагуляційного потенціалу крові і тканинного фібринолізу у білих щурів в нормі та при кадмієвій інтоксикації // *Вісн. пробл. біол. і мед.* – 1999. – № 6. – С. 130-136.

12. Мещишен И.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додекония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – К., 1991. – 37 с.

13. Набухотний Т.К., Павлюк В.П. Гіполактія. – Вінниця: БПЛ, 1995. – 69 с.

14. Перепелюк М.Д. Кислотовыделительная функция почек при экспериментальном тиреотоксикозе: Автореф. дис.... канд. мед. наук. – Львов, 1992. – 17 с.

15. Ром-Бугославская Е.С., Сомова Е.В., Гринченко Т.С. и др. Перекисное окисление липидов у больных диффузным токсическим зобом и гипотиреозом // *Лік. справа*. – 1998. – № 1. – С. 88-91.

16. Русанов С.Ю., Токарь В.И. Антиоксидантная система крови у новорожденных детей в норме и патологии // *Вопр. охр. матер. и детства*. – 1988. – № 7. – С.55-59.

17. Сомова Е.В., Ром-Бугославская Е.С., Геворкян А.Р. Влияние повреждающих факторов окружающей среды (избытка N-нитрозосоединений) на процессы липидной пероксидации в условиях измененного тиреоидного статуса // *Пробл. экол. и мед.* – 1998. – **2**, № 3-4. – С. 13-14.

18. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии*. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

19. Чевари С., Чаба И., Секкей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // *Лаб. дело*. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

## НЕОНАТАЛЬНЫЙ ГИПОТИРЕОЗ И ЛИПОПЕРОКСИДАЦИЯ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

А.Л. Кухарчук, Н.К. Зальцман

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

### Резюме

В экспериментах на 16 белых крысах-самках и 76 крысятах обоих полов показано, что у потомства крыс-самок, которые во время беременности и (или) лактации получали малые дозы хлористых соединений кадмия, таллия и свинца, на фоне неонатального гипотиреоза в тканях сердца, печени и почек повышается интенсивность перекисного окисления липидов и происходит угнетение активности антиоксидных ферментов. Раннее и продолжительное использование трийодтиронина эффективно корректирует осложнения неонатального гипотиреоза, что характеризуется нормализацией про- и антиоксидного потенциалов в сердце, печени и почках.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **тяжелые металлы, беременность, новорожденные, тиреоидные гормоны, липопероксидация, антиоксидные ферменты.**

## NEONATAL HYPOTHYROIDISM AND LIPID PEROXIDATION: PATHOGENETIC ROLE OF HEAVY METALS

O.L. Kukharchuk, N.K. Zaltsman

BUKOVYNIA STATE MEDICAL ACADEMY

### Summary

In experiments on 16 adult female albino rats and 76 young rats of both sexes it was demonstrated that under conditions of neonatal hypothyroidism in the tissues of the heart, liver and kidneys in the posterity of female rats which received low doses of the chlorous compounds of cadmium, thallium and plumbum increased the intensity of lipid peroxidation. It was shown that there occurred a sharp inhibition of antioxidant enzymes activity in the cardiac, hepatic and renal tissues in the posterity of female rats which received heavy metals at the time of pregnancy and (or) lactation. An early and prolonged use of triiodothyronine effectively resolves the complications of neonatal hypothyroidism: normalizes the pro- and antioxidant potentials in heart, liver and kidneys.

KEY WORDS: **heavy metals, pregnancy, newborns, thyroid hormones, lipoperoxidation, antioxidant enzymes.**

Отримано 24.07.2000 р.

Адреса для листування: О.Л.Кухарчук, кафедра нормальної фізіології, Буковинська державна медична академія, пр.-т Незалежності, 88 "А"/1, Чернівці, 58029, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся до  
нашої сторінки в Інтернеті:  
<http://www.tdma.ssft.ternopil.ua/journals>**

## ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ДИФТЕРІЙНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЕМОКСИПІНОМ

В.П. Малий, О.К. Полукчи, Л.М. Самохіна<sup>1</sup>  
МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ, КИЇВ  
ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ<sup>1</sup>

*В експериментальних тварин (морщаків) моделювали дифтерійну інтоксикацію. Встановлено підвищення активності протеїназ на тлі зниження рівня  $\alpha$ -2-макроглобуліну в міокарді та нирках та його збільшення в легенях і печінці на 4-7 день. Застосування емоксипіну сприяло виведенню комплексів "протеїназа- $\alpha$ -2-макроглобулін" з організму.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **дифтерія, протеїнази,  $\alpha$ -2-макроглобулін, емоксипін.**

ВСТУП. Сучасні клінічні форми дифтерії часто мають тяжкий перебіг, супроводжуються розвитком ускладнень, можливі інвалідизація хворих, летальні випадки [2]. Тому, незважаючи на значне за останні роки зниження захворюваності, вона залишається актуальною. Вивчення патогенетичних механізмів, особливо тих, що відбуваються у внутрішніх органах, є важливим, бо передбачає можливість корекції зазначених порушень.

Процеси лімітованого протеолізу відіграють важливу роль у згортальній системі крові, активізації комплементу, запаленні та імунній відповіді [1]. Але надлишкова активізація протеолізу, розвиток якого відбувається при різних патологічних станах, може призвести до загибелі частини клітин та розвитку значних функціональних розладів з боку органів або цілого організму [1]. За фізіологічних умов активність протеолітичних ферментів урівноважена із рівнем інгібіторів протеїназ [1, 10]. Одним із найважливіших інгібіторів протеїназ є  $\alpha$ -2-макроглобулін ( $\alpha$ -2-МГ), який утворює комплекси з протеїназами всіх класів: сериновими, тіоловими, металозалежними та кислими. Він здатен пригнічувати активність більшості протеїназ широкого спектра дії, таких, як еластаза, катепсин G, бактеріальні та лейкоцитарні протеїнази. За даними літератури [1], комплекс "протеїназа- $\alpha$ -2-МГ" швидко виводиться з організму.  $\alpha$ -2-МГ є одним із головних інгібіторів калікреїн-кінінової системи, активізація якої відбувається і при

© В.П. Малий – д.м.н., проф., О.К. Полукчи – к.м.н., Л.М. Самохіна – к.б.н., 2001.

дифтерії [4], пригнічує активність НК-клітин, модулює клітинну ланку імунітету [1].

У літературі накопичено достатньо відомостей про протеолітичні системи крові та інгібітори протеїназ, їх роль при багатьох захворюваннях, у тому числі й інфекційних [3, 4, 5, 10]. Але протеоліз при дифтерії, особливо у внутрішніх органах, поки що не вивчений. Тому дослідження системи "протеїназа- $\alpha$ -2-МГ" внутрішніх органів при експериментальній дифтерійній інтоксикації стало метою нашої роботи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експеримент проводили на 34 морщаках масою ( $470 \pm 8$ ) г, поділивши їх на дві групи. До 1-ї ввійшли 18 тварин, у яких токсикоінфекційний процес моделювали введенням під шкіру щогодини по 1/100 DLM/250 г нативного субстрату екзотоксину дифтерії виробництва заводу «Біолек» протягом 24 годин [8]. 2-у групу склали 16 тварин, яким, окрім токсину, внутрішньом'язово вводили емоксипін по 10 мг/кг упродовж 7 діб. Контрольну групу становили 6 морщаків. Тварин виводили з експерименту на 1, 4, 7 доби. Забій виконували методом декапітації. За методом [6, 9] в міокарді, легенях, печінці, нирках вивчали загальну активність протеїназ (ЗАП) та рівень  $\alpha$ -2-МГ.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що з першого дня експерименту у внутрішніх органах тварин підвищувалась ЗАП (табл. 1). У цей час різниця ЗАП із контролем була достовірною ( $P < 0,05$ ) у всіх органах.

На 4-й день експерименту у тварин 1-ї групи ЗАП трохи знижувалась, але згодом знову зростала і досягала найбільшого рівня в експерименті на 7-й день ( $P < 0,05$ ). Особливо високою ЗАП була в міокарді та легенях і перевищувала контрольний рівень, відповідно, у 8,6 та 8,5 раза.

У морщаків 2-ї групи динаміка ЗАП була зовсім іншою. На 4-й день експерименту ЗАП у внутрішніх органах значно знижувалась і була в межах контролю ( $P > 0,05$ ). Активність протеїназ залишалася низькою і на 7-й день експерименту.

При вивченні активності  $\alpha$ -2-МГ у внутрішніх органах (табл. 2) було встановлено, що на 1-й день вона в нирках знижувалась, а в міокарді та печінці, навпаки, підвищувалась. Причому у тварин 1-ї групи ці явища були більш вираженими і різниця з контролем у міокарді, нирках та печінці була достовірною ( $P < 0,05$ ). Зміни рівня  $\alpha$ -2-МГ в легенях мали найменш суттєвий характер. На 4-й день експерименту у тварин 1-ї групи встановлено подальше підвищення активності  $\alpha$ -2-МГ в печінці і легенях, тоді як у міокарді вона знижувалася. На 7-й день у морщаків 1-ї групи активність  $\alpha$ -2-МГ у міокарді та нирках була найменшою за весь час експерименту ( $P < 0,05$ ).

На 4-й день у тварин, які отримували емоксипін, рівень  $\alpha$ -2-МГ у внутрішніх органах був низьким, різниця з контролем та 1-ю групою була достовірною ( $P < 0,05$ ). Схожа динаміка  $\alpha$ -2-МГ у морщаків 2-ї групи зберігалася і на 7-й день. Це свідчило про швидке виведення з організму  $\alpha$ -2-МГ в комплексі з протеїназами на тлі застосування емоксипіну.

Таким чином, при експериментальній дифтерійній інтоксикації у внутрішніх органах морщаків відбувається активізація системи "протеїназа- $\alpha$ -2-МГ". Про це свідчать показники ЗАП та  $\alpha$ -2-МГ. Розвиток цього процесу при дифтерії можна пояснити за таким механізмом [1]: пошкодження токсином клітин призводить до викиду з них активних внутрішньоклітинних протеїназ, виходу тромбопластинових субстанцій, які є в усіх тканинах; протеїнази викликають пошкодження і стимулюють епітеліальні клітини, які залучають додатково нейтрофіли в сайти запалення [12]. Нейтрофільні серинові протеїнази, такі, як еластаза, катепсин G та інші, опосередковують тканинне пошкодження в сайтах нейтрофіл-домінуючого запалення [11]. Захист епітеліальних клітин від ушкоджувальної дії протеїназ відбувається за участю інгібіторів протеїназ, таких, як  $\alpha$ -1-інгібітор протеїназ, а

Таблиця 1 – Динаміка змін ЗАП (мг/л · год) у експериментальних тварин

День експерименту	Органи, які досліджували			
	Міокард	Легені	Печінка	Нирки
Група 1-а				
1	0,045±0,016 *	0,043±0,006 *	0,33±0,004*	0,039±0,014*
4	0,032±0,008*	0,033±0,004 *	0,031±0,002 *	0,032±0,008*
7	0,096±0,012*	0,094±0,009*	0,086±0,006*	0,069±0,011 *
Група 2-а				
1	0,042±0,018*	0,035±0,008*	0,025±0,006 *	0,024±0,015
4	0,014±0,001°	0,012±0,001°	0,019±0,006 °	0,019±0,003°
7	0,016±0,005°	0,021±0,006°	0,022±0,008 °	0,013±0,005°
Контроль	0,011±0,001	0,011±0,001	0,014±0,001	0,012±0,002

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

° – зміни достовірні порівняно з першою групою ( $P < 0,05$ ).

Таблиця 2 – Динаміка показників  $\alpha$ -2-МГ (мг/л · год) у експериментальних тварин

День експерименту	Органи, які досліджували			
	Міокард	Легені	Печінка	Нирки
Група 1-а				
1	2,700±0,210*	2,843±0,821	1,980±0,292*	2,330±0,382*
4	1,460±0,420	4,761±1,051*	2,461±0,382*	1,982±0,275*
7	0,951±0,310*	3,492±0,470*	2,747±0,236*	1,311±0,333*
Група 2-а				
1	1,992±0,458	2,255±0,118	1,036±0,186	1,354±0,119*°
4	0,017±0,002*°	0,012±0,002*°	0,074±0,003*°	0,156±0,083*°
7	0,128±0,016*°	0,620±0,186*°	0,680±0,030*°	0,240±0,110*°
Контроль	1,720±0,270	2,590±0,140	0,980±0,120	3,810±0,620

також  $\alpha$ -2-МГ. Збільшення рівня токсинів у організмі може призводити до підвищення рівня  $\alpha$ -2-МГ у 2,5 рази [13].

Значне зниження в міокарді та нирках активності інгібітора протеїназ  $\alpha$ -2-МГ на 4-7 день свідчить про виснаження його запасів у цих органах. Імовірно, що цей процес є одним із механізмів розвитку міокардитів та нефрозонофритів при дифтерійній інфекції. Високий рівень  $\alpha$ -2-МГ у легенях та печінці є своєрідним антипротеазним захистом, тому розвиток ускладнень з боку цих органів відбувається рідко [2]. Підвищення рівня  $\alpha$ -2-МГ у легенях та печінці може зумовлюватись його синтезом макрофагами легень та гепатоцитами [1].  $\alpha$ -2-МГ може впливати на опосередковані лімфокінами фази запальних та інших імунних реакцій шляхом різноманітних механізмів: нейтралізацією цитопатогенних протеїназ, гальмуванням синтезу і вивільнення певних розчинних медіаторів [1].

Застосування емоксипіну при дифтерійній інтоксикації у тварин сприяло більш швидкому зниженню активності протеїназ і  $\alpha$ -2-МГ. Інгібітори функціонування протеолітичних ферментів тісно пов'язані із системою антиоксидного захисту, в умовах дефіциту інгібіторів протеїназ відбувається активація вільнорадикального окиснення [7]. Це може зумовлювати ефективність емоксипіну як антиоксиданта, і його можна рекомендувати в комплексній терапії хворих на дифтерію.

**ВИСНОВКИ.** 1. У тварин при експериментальній дифтерійній інтоксикації відбувається активація протеїназ у внутрішніх органах на тлі зниження рівня  $\alpha$ -2-МГ у міокарді та нирках і його підвищення в легенях та печінці.

2. Застосування емоксипіну сприяє швидкому виведенню комплексів "протеїназа- $\alpha$ -2-макроглобулін" з організму.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.

2. Возианова Ж.И. Дифтерия: современные аспекты // Лікув. та діагност. – 1996. – № 3. – С. 18-21.

3. Кальтянис П.А., Басис В.Ю., Игнатова М.С. и др. Исследование  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ и  $\alpha$ -2-макро глобулина в сыворотке крови при гломерулонефрите у детей // Педиатр. – 1991. – № 7. – С. 66-69.

4. Нартов П.В. Стан калікреїн-кінінової системи і динаміка перекисного окислення ліпідів у хворих на дифтерію ротоглотки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1998. – 15 с.

5. Орлов В.Н., Солод Н.Н., Юнусов М.А., Радзевич А.Э. Антипротеазная активность сыворотки крови и уровень сд-протеазного ингибитора у больных инфарктом миокарда // Кардиол. – 1990. – № 5. – С. 64-66.

6. Пат. 20171 Україна-МПК, С. 12. О. 1/38. Спосіб визначення активності протеїназ або їх інгібіторів в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, А.А. Дубінін (Україна). – Опубл. 25.12.97. – Бюл. № 6. – 3 с.

7. Пилипчук В.И. Перекисное окисление липидов, антиоксидант и ингибиторы протеиназ при заболеваниях лёгких // Врач. дело. – 1988. – № 8. – С. 62-67.

8. Привалова Л.И. Патогенез аллергического процесса при интоксикации дифтерийным экзотоксином в эксперименте: Автореф. дисс.... канд. мед. наук. – М., 1967. – 15 с.

9. Самохіна Л.М., Гольдрин Є.М., Коваль С.М. Система протеїназа – інгібітор протеїназ у хворих на гіпертонічну хворобу під впливом антигіпертензивної терапії // Мед. хім. – 2000. – № 3. – С. 11-15.

10. Чаленко В.В. Синдром активации ограниченного протеолиза в хирургии // Вестн. хир. – 1990. – № 8. – С. 41-45.

11. Hiemstra P.S., van Wetering S., Stolk J. Neutrophil serine proteinases and defensins in chronic obstructive pulmonary disease: effects on pulmonary epithelium // Eur. Respir. J. – 1998. – № 5. – P. 1200-1208.

12. Ohno K., Maier P. Tumor necrosis factor alpha differentially modulates the cellular response of rat hepatocytes in periportal- and pericentral-equivalent cultures // Eur. J. Pharmacol. – 1995. – **292**, № 3-4. – P. 205-214.

13. Saad B., Frei K., Scholl F.A. et al. Hepatocyte-derived interleukin-6 and tumor-necrosis factor alpha mediate the lipopolysaccharide-induced acute-phase response and nitric oxide release by cultured rat hepatocytes // Eur. J. Biochem. – 1995. – **229**, № 2. – P. 349-355.

# НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЭМОКСИПИНОМ

**В.П. Малый, А.Х. Полукчи, Л.М. Самохина<sup>1</sup>**  
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ, КИЕВ  
ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ<sup>1</sup>

## Резюме

У экспериментальных животных (морские свинки) моделировали дифтерийную интоксикацию. Установлено повышение активности протеиназ на фоне снижения уровня  $\alpha$ -2-макроглобулина в миокарде и почках и его повышение в лёгких и печени на 4-7 день. Применение эмоксипина способствовало выведению комплексов "протеиназа- $\alpha$ -2-макроглобулин" из организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **дифтерия, протеиназы,  $\alpha$ -2-макроглобулин, эмоксипин.**

# SOME INDICES OF THE PROTEOLYSIS SYSTEM AT EXPERIMENTAL DIPHTEHERIA INTOXICATION AND THEIR EMOXIPIN CORRECTION

**V.P. Maly, O.K. Polukchi, LM. Samokhina<sup>1</sup>**  
MEDICAL ACADEMY OF POST DIPLOMA EDUCATION, KYIV  
INSTITUTE OF THERAPY OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, KHARKIV<sup>1</sup>

## Summary

*Diphtheria intoxication was simulated in experimental animals (guinea pigs). Rising of proteinases and of  $\alpha$ -2-macroglobulin activity in internal bodies (myocardium, lungs, liver, kidney) were established. The emoxipin application promoted decrease of proteolytic processes activity.*

KEY WORDS: **diphtheria, proteinase,  $\alpha$ -2-macroglobulin, emoxipin.**

Отримано 3.05.2001 р.

Адреса для листування: Л.М. Самохіна, вул. Шарікова, 54/8, Харків, 61189, Україна.

**ВИДАВНИЦТВО "УКРМЕДКНИГА"**  
Передплатні видання Тернопільської державної  
медичної академії ім. І.Я. Горбачевського

**"Медична хімія" – 22869;**  
**"Шпитальна хірургія" – 22810;**  
**"Вісник наукових досліджень" – 22866;**  
**"Вісник соціальної гігієни та організації охорони**  
**здоров'я України" – 22867;**  
**"Інфекційні хвороби" – 22868.**



Наша адреса:

Видавництво "Укрмедкнига", майдан Волі, 1, м.Тернопіль, 46001  
тел./факс (0352) 22-80-09; тел. 22-97-29

## ВИВЧЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОФЕРМЕНТІВ ТРИПСИНОПОДІБНИХ ПРОТЕАЗ

В.П. Дівоча, Ю.Г. Сова, В.М. Михальчук  
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Вивчено характеристику ізоферментів трипсиноподібних протеаз, виділених із легенів здорових та інфікованих вірусом грипу А білих мишей. Встановлено, що їм притаманна широка субстратна специфічність. Оптимум рН ізоферментів, виділених із легенів здорових тварин, становив 7,0-8,0, у інфікованих – відхилився в кислий бік. Під дією вірусу грипу відбулася зміна молекулярної маси білків у хроматографічних піках протеаз.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** вірус грипу, трипсиноподібні протеази, інгібітори протеаз.

ВСТУП. Репродукція широкого кола вірусів тварин та рослин супроводжується протеолітичним процесингом вірусних білків, який відіграє важливу роль у біології вірусів. Що стосується вірусів грипу типів А, В і С, параміксовірусів, ротавірусів, то вірусні частки набувають вірулентності тільки після обробки трипсиноподібними протеазами клітини-хазяїна, тоді як хімотрипсинові протеази, індукуючи здібнення поверхневих білків, не активізують функцію та вірулентність віріонів [3]. Однак до сьогодні мало що відомо про протеази, які беруть участь у розщепленні вірусних білків. Немає їх ідентифікації та характеристик, що важливо для подальшого розуміння вірусного патогенезу [4]. Проводячи дослідження, ми з легенів білих мишей виділили й очистили кілька ізоферментів, що характеризуються високою трипсиноподібною активністю.

Метою даного дослідження було вивчення характеристик ізоферментів трипсиноподібних протеаз, виділених із легенів здорових та інфікованих вірусом грипу тварин.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У роботі використовували вірус грипу А/PR78/34 (H1N1), адаптований до легеневої тканини білих мишей. Інфекційний титр вірусу складав  $7,0 \lg \text{ЕД}_{50/0,2}$  мл. Вірус отримали з лабораторії музейних штамів Інституту вірусології ім. Д.І. Івановського АМН Росії. Було використано 530 білих безпородних мишей масою 16-17 г, по 100 тварин на дослід.

© В.П. Дівоча – к.м.н., Ю.Г. Сова, В.М. Михальчук – к.м.н., 2001.

Інфікування їх вірусом грипу А проводили інтраназально в об'ємі 0,05 мл під легким ефірним наркозом у концентрації  $10^{-6}$ , що відповідало інфекційній дозі вірусу 1 ЛД<sub>50</sub>. Через 72 години після інфікування тварин під глибоким наркозом забивали, забирали в них легені й кров.

З легенів здорових мишей виділили та очистили, за допомогою методу іонообмінної хроматографії на ДЕАЕ-целюлозі шість ізоферментів, які володіли високою протеолітичною активністю. З легенів інфікованих тварин – сім ізоферментів. Ці ізоферменти було взято для вивчення їх фізико-хімічних властивостей.

Оцінку активності трипсиноподібних протеаз проводили за методом К.М. Веремеєнка [1] у модифікації С.В. Вовчука [2]. Кількість білків у препаратах протеаз визначали за методом W.C. Lowri et al. [6], а у хроматографічних фракціях – спектрофотометрично за поглинанням при 750 нм. Субстратну специфічність вивчали за розщепленням гемоглобіну, казеїну, протамін-сульфату та БАПНА (N-бензоіл-1-аргінін-p-нітроанлід).

Визначення молекулярної маси піків протеаз проводили методом електрофорезу в 10 % поліакриламідному гелі за U.K. Laemmli [5] при 10 мА протягом 16 год.

Лужний електрофорез комплексу "інгібітор-протеаза" проводили в 7,5 % поліакриламідному гелі у тріс-гліциновому буфері при рН 8,3 (B.J. Davis, 1964; L. Ornstein, 1964).

Оптимум рН визначали від рН 2,0 до рН 10,0 при контакті протягом 10 хвилин і кімнатній температурі.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вивчення субстратної специфічності показало, що отримані з інфікованих легенів форми протеаз володіють досить широкою субстратною специфічністю і здатні гідролізувати субстрати природного та синтетичного походження (табл. 1).

Найкраще виділені ізоферменти гідролізують протамін, потім – казеїн. Найліпше розщеплюють протамін-сульфат 3-й і 7-й ізоферменти. 3-й ізофермент добре розщеплює і казеїн, і гемоглобін, і БАПНА.

За допомогою лужного електрофорезу вивчено фермент-інгібіторні комплекси. При цьому було виявлено, що електрофоретична рухомість ферментів і комплексів “фермент-інгібітор” не відрізнялася, що свідчить, можливо, про дисоціацію комплексу в умовах електрофорезу.

При визначенні оптимуму рН ізоферментів трипсиноподібних протеаз, виділених із легенів здорових мишей, було встановлено, що даний оптимум знаходився між рН 7,0 і 8,0 (рис. 1). При більш точному визначенні найвищі показники активності протеази спостерігались при рН 7,6 у 2-го ізоферменту і при рН 8,25 – у 5-го. Як видно з рисунка 2, оптимум рН ізоферментів, виділених із інфікованих легенів, відрізнявся від нормальних. Протеазна активність усіх ізоферментів, отриманих із заражених легенів, була значно вищою (на 2-4 порядки), ніж протеазна активність ізофер-

ментів, виділених із здорових легенів. Оптимум рН 4-го, 5-го і 7-го ізоферментів ідентичний і в незаражених, і в заражених тварин (рН-8,0). Оптимум рН 1-го і 6-го ізоферментів знаходився в нейтральній зоні (рН-6,0).

Під дією вірусу, мабуть, відбувається часткова модифікація білкової молекули 1-го, 2-го, 3-го ізоферментів і утворюється новий ізофермент на основі 6-го ізоферменту, що призводить до зміни фізико-хімічних властивостей при оптимальному рН.

В усіх фракціях, яким притаманна трипсиноподібна активність, було визначено молекулярну масу білків. Усі піки з трипсиноподібною активністю при електрофорезі в 10 % ПААГ виявились негомогенними. Як видно з таблиці 2, усі піки клітинної трипсиноподібною протеази, крім 2-го, склалися з низькомолекулярних білків.

2-й і 4-й піки склалися тільки з двох білків, 3-й і 6-й піки між собою відрізнялись тільки одним білком масою 32000 Д. При порівнянні денситограм електрофореграм 4-го, 5-го і 6-го ізоферментів, виділених із клітинних і вірусасоційованих (табл. 3) протеаз було виявлено, що в 4-му ізоферменті білки з молекулярною масою 8300 Д і 14730 Д зникали, а з'являвся білок з масою 66200 Д. У 5 піці зникали білки з молекулярною масою 19500 Д, 32000 Д і 48340 Д, а з'являлись білки з молекулярною масою 13400 Д і 63930 Д. У 6

Таблиця 1 – **Субстратна специфічність протеаз, отриманих із тканини легенів інфікованих мишей**

№ фракцій	№ ізоферментів	Казеїн (рН-6,0)	Гемоглобін (рН-3,5)	БАПНА (рН-9,0)	Протамінсульфат (рН-7,5)
1-4	1	0,80	0,00	0,67	1,26
16-23	2	0,33	0,00	0,00	2,12
31-38	3	1,60	0,64	3,00	3,45
61-63	4	1,07	0,20	0,00	1,57
75-80	5	1,70	1,31	0,00	1,46
87	6	0,49	0,47	0,00	1,77
89-93	7	1,48	0,95	0,00	8,98

Таблиця 2 – **Денситограма електрофореграм піків ізоферментів трипсиноподібних протеаз, виділених із легенів здорових мишей**

№ п/п	Найменування контролю	Молекулярна маса мітки	Молекулярна маса ізоферментів					
			1	2	3	4	5	6
1	Інгібітор трипсину, отриманий із легенів бика	6500	7630		65000	8300	5720 8130	6500
2	Цитохром С	12000	14390			14730		
3	Інгібітор трипсину, одержаний із сої	21000		22370 19070	21000		22300 19950	21000
4	Карбоангідраза	29000			29000 32000		32000	29000
5	Ячний альбумін	45000	51560				48340	
6	Бичачий сироватковий альбумін	68000	66740 75410					
7	Фосфорілаза	92000						



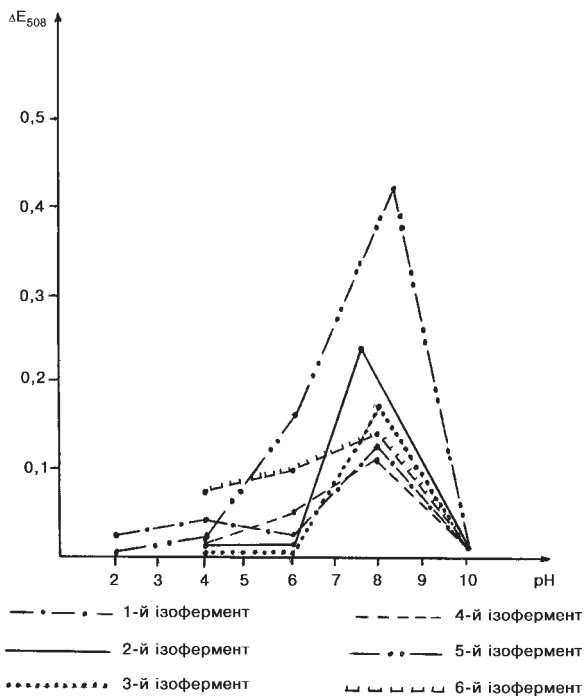


Рис. 1. Оптимум рН ізоферментів (1-6) клітинних трипсиноподібних протеаз, отриманих із легенів здорових мишей.

Примітка.  $\Delta E_{508}$  – різниця екстинкцій (спектрофотометрично) між дослідними та контрольними пробами.

піці зникали білки з молекулярною масою 6500 Д, 21000 Д і 29000 Д, а з'являлись білки з масою 10490 Д та 63930 Д.

Ці дані підтвердили наше припущення про можливу модифікацію ізоферментів, що призводила до зміни молекулярної маси та оптимуму рН. Білки 1-го, 2-го і 3-го піків, які були виділені із заражених легенів, на електрофореграмах виявити не вдалося через їх дуже маленьку кількість.

Порівняння цих результатів з даними визначення протеазної активності дозволило припустити, що високомолекулярні компоненти являли собою, головним чином, протеолітичні ферменти, а компоненти з молекулярною масою 6000 Д і 7000 Д – інгібітори

Таблиця 3 – Денситограма електрофореграм піків ізоферментів трипсиноподібних протеаз, виділених із легенів інфікованих мишей

№ п/п	Найменування контролю	Молекулярна маса мітки	Молекулярна маса ізоферментів						
			1	2	3	4	5	6	
1	Інгібітор трипсину, отриманий із легенів бика	6500					5200		
2	Цитохром С	12000					8390		
3	Інгібітор трипсину одержаний із сої	21000					13400	10490	
4	Карбоангідраза	29000					22710		
5	Ячний альбумін	45000							
6	Бичачий сироватковий альбумін	68000				66200	63930	63930	
7	Фосфорилаза	92000							

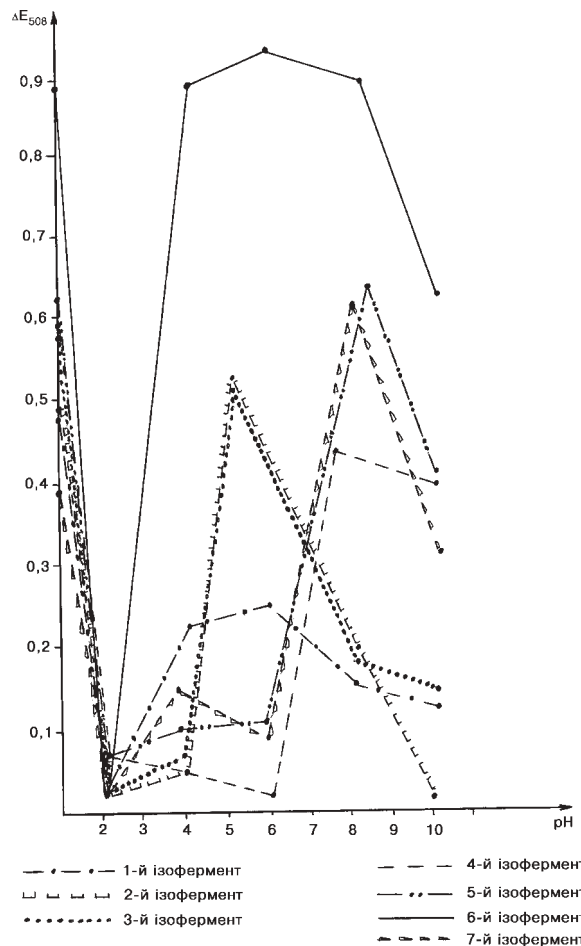


Рис. 2. Оптимум рН ізоферментів трипсиноподібних протеаз, виділених із легенів інфікованих мишей.

Примітка.  $\Delta E_{508}$  – різниця екстинкцій (спектрофотометрично) між дослідними та контрольними пробами.

протеаз. Необхідно, однак, відмітити, що й у високомолекулярних фракціях є інгібітор із молекулярною масою 47500 Д, який ми отримали за допомогою афінної хроматографії з легенів інфікованих мишей. Крім того, відомо, що альфа-1-інгібітор протеаз сироватки крові має молекулярну масу 48000-55000 Д, а інгібітор трипсину, виділений з ячного білка (овоінгібітор) – 49000 Д.

ВИСНОВОК. 1. Трипсиноподібним протеазам притаманна широка субстратна специфічність. Найкраще вони гідролізують протамінсульфат, потім – казеїн, гемоглобін, найгірше – БАПНА.

2. Оптимум рН ізоферментів, виділених із

легенів здорових мишей, становить 7,0-8,0, тоді як ізоферментів, отриманих з інфікованих легенів, відхиляється в кислий бік (рН-4,0-5,0).

3. Під дією вірусу грипу відбувається зміна молекулярної маси білків у хроматографічних піках протеаз.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Веремеенко К.М. Ферменты протеолиза и их ингибиторы в медицинской практике // Методы определения активности протеаз и их ингибиторов. – 1971. – № 5. – С. 184-199.

2. Вовчук С.В. Определение активности протеолитических ферментов в зерне злаковых культур // В сб. "Биохимические методы исследования селекционного материала". – Одесса, 1979. – Вып.15. – С. 69-67.

3. Жирнов О.П. Модификация протеолитического процессинга вирусных белков как основа конструирования антивирусных вакцин // В сб.

научных трудов ВНИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского. – Москва, 1985. – Ч. 1. – С. 61-67.

4. Goton B., Ogasawara T., Nagai J. et al. An endoprotease homologous to the blood clotting factor X as a determinant of viral tropism in chicken embryo // The EMBO J. – 9, № 12. – P. 4189-4195.

5. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – 227. – P. 680-685.

6. Lowry W.C. Protein measurement with the Folin reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – 193. – P. 265-275.

## ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИЗОФЕРМЕНТОВ ТРИПСИНОПОДОБНЫХ ПРОТЕАЗ

**В.А. Дивоча, Ю.Г. Сова, В.Н. Мыхальчук**  
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

Изучено характеристику изоферментов трипсиноподобных протеаз, выделенных из легких здоровых и инфицированных вирусом гриппа А белых мышей. Установлено, что они обладают широкой субстратной специфичностью. Оптимум рН изоферментов, выделенных из легких здоровых животных, составлял 7,0-8,0, у инфицированных – отклонялся в кислую сторону. Под действием вируса гриппа произошло изменение молекулярной массы белков в хроматографических пиках протеаз.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **вирус гриппа, трипсиноподобные протеазы, ингибиторы протеаз.**

## THE STUDYING OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF TRYPSIN-SIMILAR PROTEASES ISOENZYMES

**V.A. Divocha, Yu.H. Sova, V.M. Mykhalchuk**  
ODESA STATE MEDICAL UNIVERSITY

#### Summary

There have been studied the properties of trypsin-similar proteases isoenzymes obtained from the lungs of healthy and infected with influenza A virus white mice. They were concluded to have wide substratum specificity. Optimum pH of isoenzymes obtained from the lungs of healthy animals was 7,0-8,0. This index deflected to the acid side in infected animals. The change of protein molecular mass in chromatographic protease peaks occurred at influenza virus influence.

KEY WORKS: **influenza virus, trypsin-similar proteases, inhibitors of proteases.**

Отримано 24.07.2000 р.

Адреса для листування: В.А. Дівоча, вул. Акад. Заболотного, 1/103, Одеса, 25069, Україна.

## КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ НОВОГО РОСЛИННОГО ПРЕПАРАТУ “ПОЛІФІТОЛ-1” З СОЛЯМИ МЕТАЛІВ ТА ДЕЯКИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ЗАСОБАМИ

С.А. Олійник

МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ УКРАЇНСЬКОЇ АСОЦІАЦІЇ НАРОДНОЇ МЕДИЦИНИ, КИЇВ

*Досліджували комплексоутворення нового вітчизняного фітопрепарату “Поліфітолу-1” із солями металів ІА та ІІА груп, важких металів та з лікарськими засобами рубоміцину гідрохлоридом, цисплатином та тіопенталом натрію. Встановлено, що логарифми констант стійкості “Поліфітолу-1” з лужними металами знаходяться в межах 0,70-1,84, металами ІІ групи – 2,21-2,59, важкими металами – 2,41-3,53, з рубоміцину гідрохлоридом, цисплатином та тіопенталом натрію – 3,54, 3,26 та 2,86 відповідно. Очевидно, в умовах курсового застосування “Поліфітол-1” спроможний виводити з організму катіони важких металів, хіміотерапевтичні засоби з групи антрациклінових антибіотиків, протипухлинних препаратів платини та барбітуратів.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: “Поліфітол-1”, комплексоутворення, солі металів, лікарські засоби.

ВСТУП. Науковцями Інституту фармакології та токсикології АМН України та Медичного інституту Української асоціації народної медицини було створено лікарський препарат “Поліфітол-1”, до складу якого входять біологічно активні речовини з трави полину гіркого, кукурудзяних приймочок, кори дуба, кореневищ перстачу прямостоячого, листя м'яти перцевої, кореневищ лепехи звичайної, квітів цмину піщого, коренів кульбаби лікарської, трави звіробою, а також цукор і 40 % етиловий спирт [10]. “Поліфітол-1” не токсичний [6], має адаптогенні, стрес-, гепато- й актопротекторні властивості, здатний виводити з організму радіоактивний цезій та зменшувати гостру токсичність солей міді (II) [2, 8]. Останнє дає підстави для припущень про спроможність препарату зв'язувати та виводити також і інші речовини, перш за все такі, для яких характерна висока здатність до комплексоутворення. До останніх відносять катіони токсичних металів [1, 8], а також такі широко застосовувані в медицині засоби, як антрациклінові антибіотики, препарати платини та барбітурати [3, 9]. Солі токсичних металів, як одні з найнебезпечніших промислових забруднювачів довкілля, надходять до організму з їжею та водою і накопичуються в ньому, що призводить

до розвитку патологічних процесів; це зумовлює необхідність пошуку шляхів та засобів їх виведення [8]. Антрациклінові антибіотики, препарати платини та барбітурати здатні до матеріальної кумуляції в процесі проведення курсу хіміотерапії [9], тому з метою зменшення побічних ефектів цих лікарських засобів після закінчення курсу лікування доцільно прискорити виведення їх з організму.

Метою нашої роботи було вивчення комплексоутворення “Поліфітолу-1” та екстракту звіробою із солями металів ІА та ІІА груп, важких металів, а також із лікарськими засобами рубоміцину гідрохлоридом, цисплатином та тіопенталом натрію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували хлориди літію, натрію, калію, рубідію, цезію, берилію, магнію, кальцію, стронцію, барію, міді (II), кадмію (II), свинцю (II), ртуті (II), талію (III) кваліфікації “ч.д.а.”, а також фармакопейні препарати рубоміцину гідрохлорид, цисплатин та тіопентал натрію. Розчини реагентів у дистильованій воді готували за точною наважкою речовин. Розчин “Поліфітолу-1” готували шляхом розведення його дистильованою водою в 100-220 разів. Водний екстракт звіробою готували кип'ятінням 10 г сухої трави у 200 мл дистильованої води протягом 10 хв з подальшою екстракцією

© С.А. Олійник – к.б.н., 2001.

протягом 1 год при кімнатній температурі. Після відстоювання суміш відфільтровували, об'єм рідини доводили до 1 л дистильованою водою.

Взаємодію "Поліфітолу-1" і екстракту звіробою з катіонами металів та лікарськими засобами досліджували методом електронної УФ-спектрофотометрії [14]. Записи електронних спектрів поглинання водних розчинів як вихідних речовин, так і їх сумішей при різних співвідношеннях реагентів проводили на спектрометрі "Specord-M40" у кварцових кюветах із товщиною шару 1 см відносно дистильованої води. Концентрація розчину "Поліфітолу-1" та екстракту звіробою була постійною, а концентрація лікарських засобів змінювалася в межах від  $5 \cdot 10^{-4}$  до  $10^{-2}$  моль/л.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Розчин "Поліфітолу-1" дає одну смугу поглинання з  $\lambda_{\max}=282$  нм, що знаходиться в УФ-діапазоні. В електронних спектрах екстракту звіробою відсутні смуги з  $\lambda_{\max}$  поглинання як у видимій, так і у УФ-ділянці. У спектрах солей спостерігаються такі смуги поглинання:  $\text{PbCl}_2$  -  $\lambda_{\max}=300$  нм,  $\text{HgCl}_2$  -  $\lambda_{\max}=300$  нм,  $\text{TlCl}_3$  -  $\lambda_{\max}=243$  нм,  $\text{CuCl}_2$  -  $\lambda_{\max}=821$  нм; в усіх інших солях - смуги поглинання відсутні. Спектр поглинання рубоміцину гідрохлориду має три максимуми з  $\lambda_{\max}=253$  нм,  $\lambda_{\max}=290$  нм,  $\lambda_{\max}=481$  нм; спектр поглинання цисплатину -  $\lambda_{\max}=299$  нм, а тіопенталу натрію -  $\lambda_{\max}=230$  нм. Усі розрахунки проводили при довжині хвилі 282 нм. При зливанні розчинів хлоридів зазначених металів із розчином "Поліфітолу-1" спостерігаються характерні зміни в електронному спектрі останнього: змінюється максимум смуги поглинання переміщенням його в короткохвильову (для хлоридів металів IA та IIA груп) або довгохвильову (для хлоридів інших металів, а також лікарських засобів) ділянку, а також відбувається відхилення значення оптичної густини від закону адитивності:

$$\delta D = D_{\text{експ}} - D_{\text{"Поліфітолу-1"}} - D_{\text{речовини}} \neq 0.$$

Це може свідчити про утворення донорно-акцепторних комплексів у системі [14].

Кількісні характеристики зазначених комплексів (їх склад, величини констант стійкості) визначали методами спектрофотометричного титрування та ізомольарних серій [5, 13]. Для розрахунку констант стійкості використовували рівняння, описане в [5] для випадку, коли електронні спектри реагентів та комплексу, що утворюється, перекриваються. Помилка визначення  $K_{\text{стійк}}$  розрахована за методом найменших квадратів, не перевищувала 5 %.

Отримані величини логарифмів констант стійкості наведено в таблиці 1.

З таблиці видно, що компоненти "Поліфітолу-1" утворюють із катіонами металів та лікарськими засобами донорно-акцепторні комплекси різного ступеня стійкості, величини констант яких зростають у ряду:

$\text{Na}^+ < \text{Li}^+ < \text{K}^+ < \text{Rb}^+ < \text{Cs}^+ < \text{Be}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Cd}^{2+} < \text{Sr}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Ba}^{2+} < \text{Cu}^{2+} < \text{тіопентал натрію} < \text{цисплатин} < \text{Tl}^{3+} < \text{Pb}^{2+} < \text{Hg}^{2+} < \text{рубоміцину гідрохлорид}.$

Деякі моменти в цьому ряду потребують окремого пояснення. Так, невеликі значення  $K_{\text{стійк}}$  комплексів "Поліфітолу-1" з  $\text{Na}^+$ , порівняно з катіонами інших лужних металів, імовірно, можна пояснити сильною гідратацією  $\text{Na}^+$  в розчині. Міцніші комплекси "Поліфітолу-1" з  $\text{Mg}^{2+}$ , порівняно з іонами  $\text{Ca}^{2+}$ , можна пояснити переважним зв'язуванням  $\text{Mg}^{2+}$  з азотовмісними лігандами, тоді як усі інші катіони підгрупи IIA віддають перевагу кисню [11]. "Поліфітол-1" є багатокомпонентною системою, до складу якої входять як кисень, так і азотовмісні органічні сполуки. Тому  $\text{Mg}^{2+}$  утворює стійкіші комплекси з азотовмісними лігандами, а інші досліджені катіони підгрупи IIA - з кисневмісними біолігандами, що узгоджується з даними досліджень інших авторів [11].

Щодо механізму комплексоутворення компонентів "Поліфітолу-1" з катіонами досліджуваних металів та лікарськими засобами можна зробити припущення, які базуються на хімічному складі цих компонентів. Згідно з літературними даними [7], до складу "Поліфітолу-1" у великій кількості входять дубильні речовини (високомолекулярні поліфеноли), ефірні масла, флавоноїди та сапоніни. Усі вони, за винятком похідних спіросолану, є кисневмісними сполуками, що належать до різних класів органічних речовин (феноли, кислоти, альдегіди, кетони, спирти тощо). Похідні спіросолану є азотовмісними сполуками, азотистими аналогами стероїдних глікозидів, вони належать до глікоалкалоїдів, містяться в коренях кульбаби, кореневищах лепехи звичайної та кукурудзяних приймочках [4,7], мають основні властивості й можуть утворювати міцні комплекси з катіонами  $\text{Mg}^{2+}$ . Усі ці сполуки завдяки наявності карбонільних та фенольних оксигруп здатні утворювати комплекси із солями металів різного ступеня стійкості залежно від природи металу, рН середовища, природи розчинника тощо. Комплексоутворення повинно відігравати певну роль в їх біологічній дії.

Таблиця 1 – Логарифми констант стійкості комплексів “Поліфітолу-1”, екстракту звіробою та унітіолу з катіонами металів та лікарськими засобами

Іони металів	IgK <sub>стійк</sub> "Поліфітолу-1"	IgK <sub>стійк</sub> екстракту звіробою	IgK <sub>стійк</sub> унітіолу
Лужні метали			
Li <sup>+</sup>	0,95	0,48	-
Na <sup>+</sup>	0,70	-	-
K <sup>+</sup>	1,68	1,08	-
Rb <sup>+</sup>	1,81	1,87	-
Cs <sup>+</sup>	1,84	1,80	-
Метали ІІА групи			
Be <sup>2+</sup>	2,21	1,30	-
Mg <sup>2+</sup>	2,49	1,58	-
Ca <sup>2+</sup>	2,38	1,40	-
Sr <sup>2+</sup>	2,42	2,35	-
Ba <sup>2+</sup>	2,59	2,00	-
Важкі метали			
Cu <sup>2+</sup>	2,63	2,41	3,69
Cd <sup>2+</sup>	2,41	2,30	3,71
Pb <sup>2+</sup>	3,31	2,48	4,86
Hg <sup>2+</sup>	3,35	2,93	4,93
Tl <sup>3+</sup>	3,27	2,40	4,76
Лікарські засоби			
Рубоміцину гідрохлорид	3,54	2,82	-
Цисплатин	3,26	2,86	-
Тіопенал натрію	2,86	2,30	-

До складу молекул тіопенталу натрію (5-етил-5(2-аміл)-2-тіобарбітурат натрію) та рубоміцину гідрохлориду, що нагадує структуру глікозиду, входять гетероатоми (кисень, азот, сірка), які знаходяться в різних типах гібридизації, що відрізнятиме їх за здатністю до донорно-акцепторної взаємодії. Стосовно цисплатину можна зробити припущення, що комплексоутворення супроводжується зміною складу та типу комплексу з витісненням хлорид-аніонів у зовнішню сферу. Як зазначалося вище, компоненти “Поліфітолу-1” теж мають гетероатоми. Реагуючі сполуки, завдяки наявності гетероатомів, здатні утворювати міжмолекулярні донорно-акцепторні комплекси різного ступеня стійкості.

Для підтвердження цього було вивчено комплексоутворення водного екстракту звіробою як одного з компонентів “Поліфітолу-1” з катіонами зазначених металів та лікарськими засобами (табл. 1). Отримані результати свідчать про те, що міцність комплексів іонів металів (за винятком лужних металів) та лікарських засобів з екстрактом звіробою є нижчою, ніж із “Поліфітолом-1”, хоча основні складові частини екстракту звіробою – дубильні речовини та смоли, що можна пояснити, ймовірно, меншим вмістом цих речовин в екстракті звіробою або тим, що в “Поліфітолі-1” компоненти підсилюють дію один одного, підвищуючи стійкість комплексів з іонами досліджуваних металів та лікарськими засобами.

Відомо, що сполуки, які містять тіолові групи, спроможні взаємодіяти з катіонами багатьох токсичних металів і утворювати з ними нетоксичні комплекси, що виводяться з організму із сечею, є антидотами при отруєннях солями важких металів, у тому числі солями кадмію, свинцю, талію та ртуті. Одним із найефективніших антидотів такого механізму дії є запропонований акад. О.І. Черкесом унітіол (2,3-димеркаптопропансульфонат натрію), який містить дві тіолові групи. У ході проведення досліджень нами доведено утворення комплексів унітіолу із зазначеними катіонами, величини констант стійкості яких є вищими, ніж з “Поліфітолом-1” (табл. 1). Проте унітіол є лікарським засобом, який використовують для виведення з організму іонів токсичних металів, його не можна застосовувати з профілактичною метою з огляду на певну токсичність препарату, наявність побічних ефектів (нудоти, тахікардії, збліднення обличчя, запаморочення), протипоказань (виразкової хвороби шлунка, артеріальної гіпертензії, захворювань печінки), а також через те, що основними шляхами його введення є парентеральні шляхи [9]. Разом із тим, “Поліфітолу-1”, який є нетоксичним рослинним засобом, практично не має протипоказань, тому може застосовуватися з профілактичною метою протягом тривалого часу.

З усіх досліджуваних нами катіонів металів найслабкіші комплекси з “Поліфітолом-1”

утворюють лужні метали. Це узгоджується з літературними даними про те, що лужні метали не схильні утворювати стійких комплексів з іншими сполуками [12]. У зв'язку з цим, виведення їх з організму є досить складною проблемою. Тому, зважаючи на відносно невисокі значення  $K_{\text{стійк}}$  комплексів "Поліфітолу-1" з катіонами лужних металів взагалі й цезію зокрема, можна припустити, що механізм дії "Поліфітолу-1" як декорпоранту пояснюється не тільки його комплексоутворенням із  $\text{Cs}^+$ , а і взаємодією зазначеного катіону з кисневмісними сполуками, які входять до складу "Поліфітолу-1". Як зазначено вище, до складу "Поліфітолу-1" входять феноли, поліфеноли, карбонові кислоти, які здатні реагувати з катіонами лужних металів з утворенням солей та фенолятів, що призводить до зв'язування зазначених катіонів і зменшення їх всмоктування в шлунково-кишковому тракті. Комплексоутворення водного екстракту звіробою з катіонами лужних металів підтверджує це припущення. Отримані результати свідчать про те, що міцність комплексів іонів металів (особливо цезію та рубідію) з екстрактом звіробою має той же порядок, що і з "Поліфітолом-1". Основні складові частини екстракту звіробою – дубильні речовини та смоли, антраценові похідні (гіперіцин та псевдогіперіцин), флавоноїдні глікозиди флавонолової групи (рутин, кверцитин, гіперозид, мірицетин, лейкоантоціанідини, антоціани), сапоніни. Практично всі зазначені речовини є кисневмісними сполуками і спроможні утворювати солі та феноляти, що, очевидно, і пояснює близькі значення констант комплексоутворення екстракту звіробою і "Поліфітолу-1" з лужними металами.

Отже, на підставі отриманих даних можна зробити припущення, що "Поліфітол-1", утво-

рюючи комплекси з катіонами токсичних металів (ртуті, свинцю, талію, барію, стронцію, кадмію, міді, берилію) та деякими спроможними до матеріальної кумуляції фармпрепаратами (антрацикліновими антибіотиками, протипухлинними препаратами платини, барбітуратами), можливо, сприяє виведенню їх з організму. Це узгоджується з одержаними нами раніше даними щодо властивості "Поліфітолу-1" при превентивному введенні знижувати гостру токсичність міді (II) сульфату [2]. Проте, ймовірно, "Поліфітол-1" при тривалому застосуванні спроможний призвести до збіднення організму на магній та кальцій, що потребує призначення збагаченої на ці біогенні елементи дієти. Щодо прискорення виведення з організму ізотопів  $^{137}\text{Cs}$ , то, очевидно, воно відбувається за рахунок як комплексоутворення "Поліфітолу-1" з катіонами цезію, так і його хімічної взаємодії з утворенням солей та фенолятів.

**ВИСНОВКИ.** 1. "Поліфітол-1" утворює комплекси із солями лужних металів, металів ІІА групи, важких металів (міді (II), кадмію (II), свинцю (II), ртуті (II), талію (III)), а також із лікарським засобами рубоміцину гідрохлоридом, цисплатином та тіопенталом натрію.

2. Логарифми констант стійкості "Поліфітолу-1" з лужними металами знаходяться в межах 0,70-1,84, металами ІІ групи – 2,21-2,59, важкими металами – 2,41-3,53, а з рубоміцину гідрохлоридом, цисплатином та тіопенталом натрію – 3,54; 3,26 та 2,86 відповідно.

*Автор висловлює щирі вдячність к.х.н., доц. Т.Г. Самарській, к.х.н., доц. В.А. Самарському та к.х.н. І.В. Затовському за методологічну допомогу, надану при виконанні цієї роботи.*

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Барабой В.А., Олійник С.А., Войціцький В.М., Туманов В.А. Вплив "Поліфітолу-1" на гостру токсичність міді сульфату // Вісн. Київського у-ту. Серія: "Біологія". – 2001. – Вип. 32. – С. 6-9.
3. Булкина З.П. Противоопухолевые препараты: Справочник. – К.: Наук. думка, 1991. – 304 с.
4. Ганич Т. Радіація. Здоров'я. Радіопротекція. – Ужгород: Полічка "Карпатського краю", 1996. – 352 с.
5. Гурьянова Е.Н., Гольдштейн И.П., Ромм И.П. Донорно-акцепторная связь. – М.: Наука, 1973. – 400 с.
6. Кава Т.В., Олійник С.А., Горчакова Н.О. та ін. Токсикологічна характеристика нових комплексних вітчизняних фітопрепаратів та їх компонентів // Совр. пробл. токсикол. – 1998. – № 2. – С. 15-17.
7. Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. Растительные лекарственные средства. – К.: Здоров'я, 1985. – 280 с.
8. Трахтенберг И.М., Колесников В.С., Луковенко В.П. Тяжелые металлы во внешней среде:

современные гигиенические и токсикологические аспекты. – Минск: Навука і тэхніка, 1994. – 285 с.

9. Тринус Ф.П. Фармакотерапевтический справочник. – К.: Здоров'я, 1998. – 880 с.

10. Туманов В.А., Поканевич В.В., Войтенко Г.Н. и др. Динамика процессов перекисного окисления липидов в крови и органах крыс при облучении в низких дозах и их коррекция природными антиоксидантами // Фітогер. в Україні. – 1998. – № 1. – С. 24, 29-32.

11. Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – 485 с.

12. Хьюи Дж. Неорганическая химия. Строение вещества и реакционная способность: Пер. с англ. – М.: Химия, 1987. – 696 с.

13. Inczedy Y. Analytical applications of complex equilibria. – N.-Y.-Budapest, 1976. – 542 p.

14. Rao C.N.R. Ultra-violet and visible spectroscopy. Chemical applications. – London: Butterworth, 1971. – 214 p.

## КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ НОВОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА “ПОЛИФИТОЛ-1” С СОЛЯМИ МЕТАЛЛОВ И НЕКОТОРЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ

**С.А. Олейник**

МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ УКРАИНСКОЙ АССОЦИАЦИИ НАРОДНОЙ МЕДИЦИНЫ, КИЕВ

### Резюме

Исследовали комплексобразование нового отечественного фитопрепарата “Полифитола-1” с солями металлов IA и IIA групп, тяжелых металлов и с лекарственными средствами рубомицина гидрохлоридом, цисплатином и тиопенталом натрия. Установлено, что логарифмы констант стойкости “Полифитола-1” с щелочными металлами находятся в пределах 0,70-1,84, металлами II группы – 2,21-2,59, тяжелыми металлами – 2,41-3,53, с рубомицина гидрохлоридом, цисплатином и тиопенталом натрия – 3,54, 3,26 и 2,86 соответственно. Очевидно, в условиях курсового применения “Полифитол-1” способен выводить из организма катионы тяжелых металлов, химиотерапевтические средства из группы антрациклиновых антибиотиков, противоопухолевых препаратов платины и барбитуратов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: “Полифитол-1”, комплексобразование, соли металлов, лекарственные средства.

## COMPLEXMAKING OF NEW PHYTOREMEDY “POLYPHYTOLUM-1” WITH METAL SALTS AND SOME DRUGS

**S.A. Oliynyk**

MEDICAL INSTITUTE OF UKRAINIAN ASSOCIATION OF FOLK MEDICINE, KYIV

### Summary

The complexmaking of new Ukrainian phyto remedy “Polyphytolum-1” with metals IA and IIA groups and heavy metals salts and some drugs – rubomycine hydrochloride, cysplatine and thiopentale-sodium – was investigated. It was established that logarithms of stability constants of “Polyphytolum-1” with alkaline metals are in 0,70-1,84 limits, with metals IIA group – in 2,21-2,59 limits, with – rubomycine hydrochloride, cysplatine and thiopentale – 3,54; 3,26 and 2,86 accordingly. However, in conditions of course using “Polyphytolum-1” can eliminate from the organism heavy metals cations and chiotherapeutical drugs from antracycline antibiotics, antineoplastic platinum drugs and barbiturate groups.

KEY WORDS: “Polyphytolum-1”, complexmaking, metal salts, drugs.

Отримано 4.07.2001 р.

Адреса для листування: С.А. Олійник, вул. О.Ольжича, 18А/127, Київ, 04086, Україна.

## КОРЕКЦІЯ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ДЕТОКСИКУЮЧОЇ СИСТЕМИ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ КАДМІЄВОМУ ТОКСИКОЗІ ЗА ДОПОМОГОЮ ЛІПОСОМ

I.Є. Соловодзінська

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Досліджували показники детоксикуючої системи та ендогенної інтоксикації в щурів 3-, 6-, 18-місячного віку з кадмієвим токсикозом та при корекції ліпосомами, насиченими манітолом і цитохромом С. Встановлено, що введення ліпосом суттєво нормалізувало стан детоксикуючої системи та ендогенної інтоксикації. Причому найбільший ефект від їх введення спостерігали у тварин старшої вікової групи.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кадмієвий токсикоз, детоксикуюча система, ендогенна інтоксикація, мікросомальне окиснення, середні молекули, вік, ліпосоми.

ВСТУП. Перспективним і сучасним методом корекції ендогенної інтоксикації є використання ліпосом [1, 2, 4, 6]. В основі теоретичних розробок з отримання ліпосом лежить відома властивість ліпідів спонтанно набухати й утворювати рідинно-кристалічні структури в присутності великої кількості води або сольових розчинів. Водорозчинні препарати заносяться в їх водну внутрішню фазу, а ліпофільні сполуки включаються в бішарову мембрану.

Нами вперше отримано і використано ліпосоми, насичені манітолом і цитохромом С, для корекції кадмієвої інтоксикації. Доцільність застосування даних середників пояснюється тим, що вони є пастками гідроксильних та супероксиданіонрадикалів.

Метою нашого дослідження було вивчити зміни показників детоксикуючої системи та ендогенної інтоксикації у тварин різних вікових груп з кадмієвим токсикозом та при корекції ліпосомами.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на лабораторних щурах-самцях лінії Вістар віком 3-18 місяців. Тварин розділили на три групи: інтактні, уражені та з корекцією ліпосомами. У кожній групі було по 6 щурів (n=6). Кадмієвий токсикоз викликали шляхом внутрішньочеревного введення хлориду кадмію, який попередньо розводили в 0,9 % розчині хлориду натрію, з розрахунку 7 мг/кг

© I.Є. Соловодзінська, 2001.

маси тіла тварини. Інтактним щурам вводили відповідну кількість 0,9 % розчину хлориду натрію. Ліпосоми було виготовлено за методикою [3]. Холінфосфатид та холестерол диспергували в розчині Хенкса з розчиненими в ньому 0,2 г манітолу та 0,11 мг цитохрому С із розрахунку на 100 мг ліпосом. Систему обробляли ультразвуком [3]. Отримані ліпосоми швидко заморожували в рідкому азоті (-195 °С) і відразу ж поміщали пробірку у водяну баню (20-25 °С). Розморожену суміш знову заморожували і робили так тричі. Після останнього заморожування її розморожували при кімнатній температурі [3]. Ліпосоми вводили в концентрації 100 мг/мл внутрішньочеревинно щоденно протягом усього експерименту з розрахунку 75 мг/кг маси тварин. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом на 1-у, 4-у, 7-у доби експерименту. Дослідженню підлягали сироватка крові і гомогенат печінки. Визначали вміст середніх молекул (СМ) при довжині хвиль 254 (СМ<sub>1</sub>) та 280 нм (СМ<sub>2</sub>) [7], деметилазну та гідроксилазну активність мікросом [5]. Мікросоми виділяли методом диференційного центрифугування. Усі експериментальні дані підлягали обробці статистичним методом із використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Застосування ліпосом дало позитивні результати при дослідженні функціонального стану мікросом (рис. 1). У трьох групах тварин



спостерігали підвищення деметилазної активності протягом усього експерименту. Так, на 7-у добу швидкість деметилювання диметиланіліну збільшилася, порівняно з контрольною групою тварин, в 1,6, 1,5 та 1,4 раза в 3-, 6-, 18-місячних щурів відповідно. Під впливом ліпосом також достовірно підвищувалася гідроксилазна активність в усі строки дослідження в усіх групах тварин.

Кадмій, максимально накопичуючись у печінці, очевидно, пошкоджує мембрани ендоплазматичного ретикулума. Виходячи з феномена тропності ліпосом до печінки і з того факту, що при ураженнях печінки різної етіології, насамперед токсичних, дуже часто

порушуються фосфоліпідні структури мембран гепатоцитів і органел, застосування ліпосом при токсичних гепатитах є доцільним. Ліпосоми здійснюють відновний ефект як на мембрани ендоплазматичного ретикулума, так і на плазматичні мембрани печінки [6].

Маркерами ендогенної інтоксикації є СМ – продукти катаболізму ендо- й екзогенних білків [7]. Під впливом хлориду кадмію, внаслідок порушення обмінних процесів (посилення катаболізму білків) спостерігали збільшення вмісту СМ у всі дні експерименту (табл. 1).

Введення ліпосом регулювало вміст СМ у крові та печінці щурів і наближало його до норми. У трьох групах тварин упродовж усього

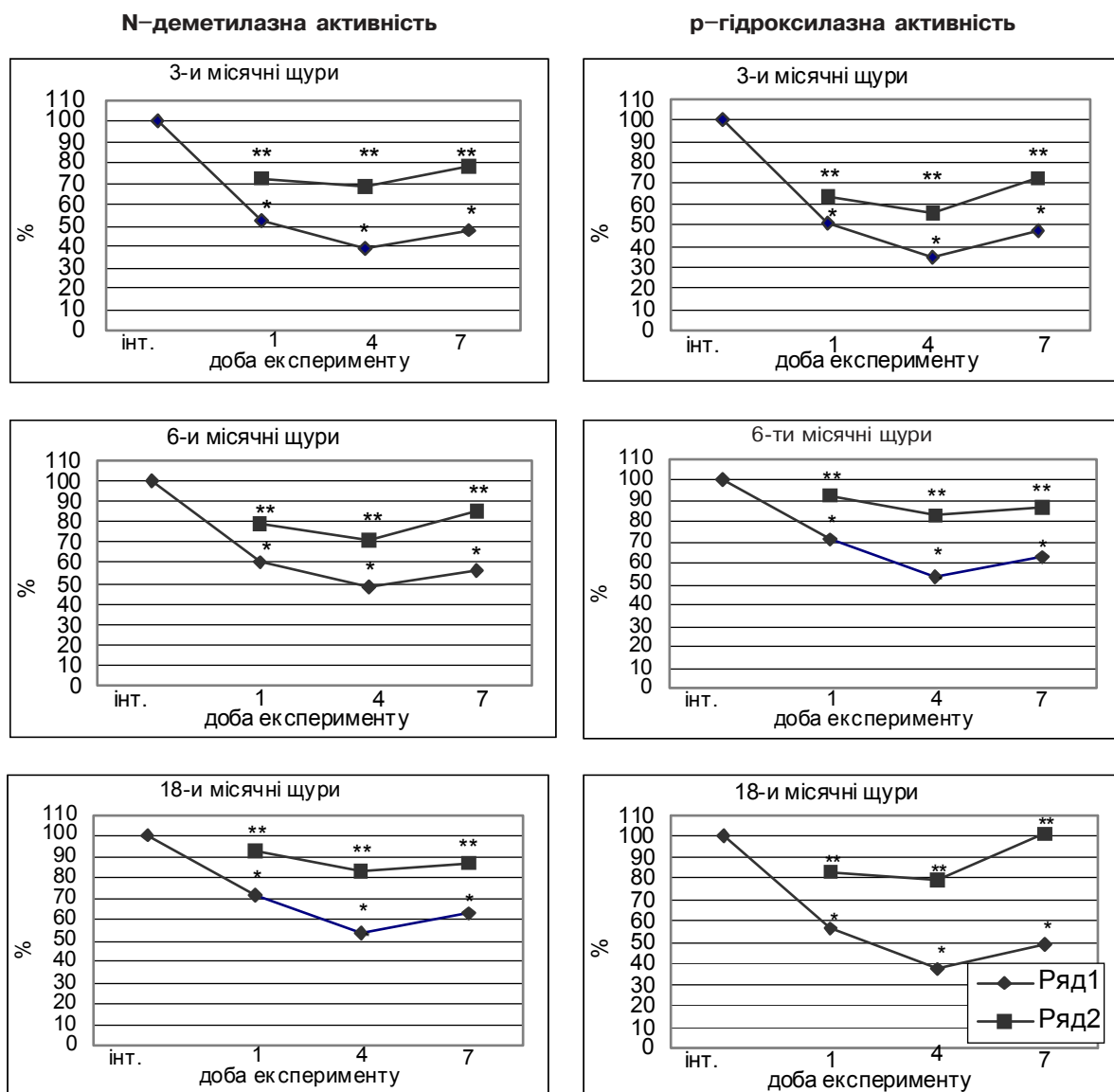


Рис. 1. Вплив ліпосом на N-деметилазну та p-гідроксилазну активність мікросом печінки тварин, уражених хлоридом кадмію.

Примітки: 1. Ряд 1 – уражені тварини; ряд 2 – щури з корекцією ліпосомами.

2. \* – зміни достовірні відносно інтактних тварин ( $p < 0,05$ ); \*\* – зміни достовірні відносно уражених тварин ( $p < 0,05$ ).

дослідження вміст  $SM_1$  у крові достовірно зменшувався і на 7-у добу в щурів 3-, 6- та 18-місячного віку становив, відповідно, 120, 110 та 98 % відносно рівня інтактних тварин. Аналогічна спрямованість змін відмічалася в гомогенаті печінки. Максимальний вплив ліпосоми здійснювали на вміст  $SM_1$  у тварин 18-місячного віку, в яких на 7-у добу експерименту значення дорівнювали вмісту інтактних щурів. Порівняно з ураженими тваринами, в 3-місячних щурів під впливом ліпосом на 1-у, 4-у та 7-у доби вміст  $SM_2$  зменшувався на 56; 52 та 29 % у крові та на 28, 43 і 31 % у печінці. У дорослих (6-міс.) та старих (18-міс.) тварин у всі дні дослідження також спостерігали достовірне зменшення вмісту  $SM_2$ , причому на 7-у добу експерименту в 18-місячних щурів значення були дещо нижчими, порівняно з інтактними

тваринами, і становили 88 % у крові та 97 % у печінці.

Таким чином, введення ліпосом зменшувало вираження токсичного синдрому. Очевидно, в основі позитивного впливу ліпосом знаходяться взаємодія їх компонентів із мембранними структурами та здатність їх підвищувати антиоксидну активність шляхом компенсаторного зв'язування з вільними радикалами ліпідної природи та активними формами кисню.

**ВИСНОВОК.** Введення ліпосом суттєво нормалізує стан детоксикуючої системи та призводить до інтесифікації пригнічених уведенням хлориду кадмію окиснювальних процесів у мікосоммах печінки, сприяє зменшенню токсичного синдрому. Найбільший ефект від введення ліпосом спостерігається у тварин старшої вікової групи.

Таблиця 1 – Динаміка вмісту  $SM$  (ум. од.) у крові й печінці щурів при кадмієвій інтоксикації та корекції ліпосомами ( $M \pm m$ ; n-6)

Дослідний матеріал	Доба експерименту	Група тварин	Показник	Вік, міс.		
				3	6	18
кров	1	інтактні	$SM_1$	0,217 $\pm$ 0,010	0,250 $\pm$ 0,007	0,286 $\pm$ 0,070
			$SM_2$	0,027 $\pm$ 0,002	0,033 $\pm$ 0,002	0,052 $\pm$ 0,002
		уражені	$SM_1$	0,332 $\pm$ 0,005*	0,355 $\pm$ 0,005*	0,344 $\pm$ 0,003*
			$SM_2$	0,064 $\pm$ 0,002*	0,079 $\pm$ 0,001*	0,082 $\pm$ 0,002*
		тварини з корекцією	$SM_1$	0,305 $\pm$ 0,005**	0,331 $\pm$ 0,002**	0,312 $\pm$ 0,002**
			$SM_2$	0,049 $\pm$ 0,003**	0,063 $\pm$ 0,003	0,062 $\pm$ 0,004**
	4	уражені	$SM_1$	0,371 $\pm$ 0,005*	0,376 $\pm$ 0,002*	0,385 $\pm$ 0,005*
			$SM_2$	0,073 $\pm$ 0,004*	0,086 $\pm$ 0,002*	0,091 $\pm$ 0,002*
		тварини з корекцією	$SM_1$	0,352 $\pm$ 0,004**	0,357 $\pm$ 0,003**	0,346 $\pm$ 0,004**
			$SM_2$	0,059 $\pm$ 0,002**	0,067 $\pm$ 0,003**	0,075 $\pm$ 0,003**
	7	уражені	$SM_1$	0,290 $\pm$ 0,005*	0,320 $\pm$ 0,004*	0,306 $\pm$ 0,007
			$SM_2$	0,048 $\pm$ 0,004*	0,057 $\pm$ 0,003*	0,074 $\pm$ 0,002*
тварини з корекцією		$SM_1$	0,261 $\pm$ 0,004**	0,275 $\pm$ 0,003**	0,282 $\pm$ 0,005**	
		$SM_2$	0,040 $\pm$ 0,002	0,044 $\pm$ 0,002**	0,046 $\pm$ 0,002**	
печінка	1	інтактні	$SM_1$	0,216 $\pm$ 0,010	0,312 $\pm$ 0,006	0,343 $\pm$ 0,008
			$SM_2$	0,044 $\pm$ 0,002	0,045 $\pm$ 0,002	0,067 $\pm$ 0,003
		уражені	$SM_1$	0,407 $\pm$ 0,004*	0,407 $\pm$ 0,006*	0,470 $\pm$ 0,009*
			$SM_2$	0,073 $\pm$ 0,002*	0,085 $\pm$ 0,004*	0,140 $\pm$ 0,015*
		тварини з корекцією	$SM_1$	0,383 $\pm$ 0,003**	0,368 $\pm$ 0,003**	0,428 $\pm$ 0,003**
			$SM_2$	0,061 $\pm$ 0,004**	0,068 $\pm$ 0,002**	0,076 $\pm$ 0,001**
	4	уражені	$SM_1$	0,406 $\pm$ 0,003*	0,426 $\pm$ 0,003*	0,449 $\pm$ 0,004*
			$SM_2$	0,086 $\pm$ 0,001*	0,093 $\pm$ 0,002*	0,151 $\pm$ 0,010*
		тварини з корекцією	$SM_1$	0,386 $\pm$ 0,005**	0,406 $\pm$ 0,005**	0,425 $\pm$ 0,003**
			$SM_2$	0,067 $\pm$ 0,003**	0,071 $\pm$ 0,003**	0,070 $\pm$ 0,002**
	7	уражені	$SM_1$	0,361 $\pm$ 0,001*	0,384 $\pm$ 0,003*	0,380 $\pm$ 0,004*
			$SM_2$	0,062 $\pm$ 0,003*	0,068 $\pm$ 0,004	0,094 $\pm$ 0,003
		тварини з корекцією	$SM_1$	0,337 $\pm$ 0,002**	0,350 $\pm$ 0,002**	0,351 $\pm$ 0,004**
			$SM_2$	0,048 $\pm$ 0,002**	0,052 $\pm$ 0,001**	0,065 $\pm$ 0,003**

Примітка. \* – зміни достовірні відносно інтактних тварин ( $p < 0,05$ ); \*\* – зміни достовірні відносно уражених тварин ( $p < 0,05$ ).

## ЛІТЕРАТУРА

1. Антонов В.Ф., Князев Ю.А., Мошковский Ю.Ш. и др. Использование в клинической медицине липосомальных форм лекарственных препаратов // Сов. мед. – 1983. – № 5. – С. 59-63.
2. Архипенко И.В., Невзорова В.А., Гельцер Б.И. Современные представления о липосомах и перспективы их использования в пульмонологии // Тер. арх. – 1998. – № 3. – С. 78-81
3. Будкер В.Г., Вахрушева Т.Е., Киселева Е.В., Христолюбова Н.Б. Получение липосом с лекарственными препаратами // Хим.-фармац. журн. – 1987. – **21**, № 3. – С. 347-351.
4. Грегориadis Г., Аллисон А. Липосомы в биологических системах. – М.: Медицина, 1983. – 384 с.
5. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 49-62.
6. Корда М.М., Бродін С.В., Стравський Я.С., Крижанівський Я.Й. Використання ліпосом у клінічній медицині // Ліки. – 1997. – № 5. – С. 67-71.
7. Лившиц Р.И., Вальдман Б.М., Волчегорский И.А., Лужевский А.С. Роль среднемолекулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах // Бюл. эксперим. биол. – 1986. – **101**, № 3. – С. 280-282.

## КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КАДМИЕВОМ ТОКСИКОЗЕ ПРИ ПОМОЩИ ЛИПОСОМ

**И.Е. Соловодзинская**

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

Исследовали показатели детоксикационной системы и эндогенной интоксикации в крыс 3-, 6-, 18-месячного возраста с кадмиевым токсикозом и при коррекции липосомами, насыщенными маннитолом и цитохромом С. Установлено, что введение липосом существенно нормализовало состояние детоксикационной системы и эндогенной интоксикации. Причем максимальный эффект от их введения наблюдали у животных старшей возрастной группы.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** кадмиевый токсикоз, детоксикационная система, эндогенная интоксикация, микросомальное окисление, средние молекулы, возраст, липосомы.

## THE CORRECTION OF DETOXICATION SYSTEM AND ENDOGENOUS INTOXICATION BY LIPOSOMES IN EXPERIMENTAL CADMIUM TOXICOSIS

**I.Ye. Solovodzinska**

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

The indices of detoxication system and endogenous intoxication in 3-, 6-, 18-th months rats with cadmium toxicosis and the lesions correction by liposomes, incorporated by manitol and cytochrome C have been investigated. It has been determined that the state of detoxication system and endogenous intoxication was essentially normalized by administration of liposomes. Especially, this effect was the greatest in the oldest age group animals.

**KEY WORDS:** cadmium toxicosis, detoxication system, endogenous intoxication, microsomal oxidation, middle molecular peptides, age, liposomes.

Отримано 12.09.2001 р.

Адреса для листування: І.Є. Соловодзінська, кафедра медичної хімії, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль. 46001, Україна.

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ МЕТАЛОКОМПЛЕКСІВ НІТРОЗАМІЩЕНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

О.А. Бризицький, О.М. Свечнікова, С.Г. Ісаєв, С.М. Дроговоз  
НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Нітрозаміщені N-фенілантранілових кислот синтезовано за модифікованою реакцією Ульмана у твердій фазі, на їх основі потім отримано мідні та цинкові комплекси. Будову комплексів підтверджено сучасними фізико-хімічними методами аналізу. Проведено дослідження біологічної дії металокомплексів 3- та 5-нітро-N-фенілантранілових кислот. Встановлено, що металокомплекси проявляють помірну протизапальну, слабку жовчогінну, анагетичну та бактеріостатичну активність. Мідні комплекси 3-нітро-N-фенілантранілових кислот, за класифікацією К.К. Сидорова, належать до класу помірно та малотоксичних речовин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: N-фенілантранілові кислоти, металокомплекси, фармакологічний скринінг.

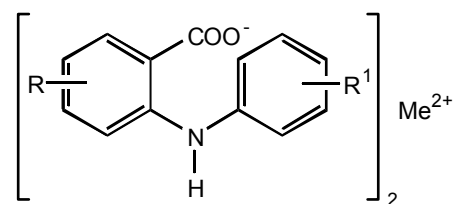
ВСТУП. Значний інтерес в плані сполук з фармакологічною активністю становлять N-фенілантранілові кислоти та їх похідні [5-7, 9]. Експериментально встановлено, що утворення координаційних сполук ароматичних кислот з металами часто призводить до виникнення протизапальної, анагетичної, антимікробної та гепатопротекторної дії [3, 8, 12].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сполуки, що досліджувались, було синтезовано на кафедрах аналітичної та фармацевтичної хімії Національної фармацевтичної академії України. Нітрозаміщені N-фенілантранілових кислот синтезовано за модифікованою реакцією Ульмана [7], на їх основі потім отримано мідні та цинкові комплекси згідно з відомою методикою [12]. Будову нових сполук (I-XI) (рис. 1) підтверджено даними елементного, ІЧ-спектрального та хроматографічного аналізу. Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Вивчення гострої токсичності синтезованих речовин проводили на білих мишах обох статей масою 18-24 г при внутрішньочеревному їх уведенні у вигляді 3-5 % тонкої водної суспензії, стабілізованої емульгатором – твіном-80. Кількість тварин, які вижили та загинули, відмічали кожні 24 год протягом 14 днів. Середні смертельні дози ( $LD_{50}$ ) визначали за методом Кербере [1].

© О.А. Бризицький, О.М. Свечнікова – д.х.н., С.Г. Ісаєв – к.фарм.н., С.М. Дроговоз – д.м.н., проф., 2001.

Антиексудативну активність вивчали на моделі каолінового набряку на білих мишах, вводячи їм 3-5 % водну суспензію, стабілізовану твіном-80, у дозі 0,1  $DL_{50}$  [4]. Сполуки вводили внутрішньочеревно за 40 хв до введення флогагену. Флогаген (10 % розчин каоліну) вводили в дозі 0,1 мл субплантарно в задню праву лапку. Об'єм лапки вимірювали до початку експерименту та через 4 години після введення флогагену за допомогою водяного онкометра. Як препарати порівняння було використано аналоги за дією та



- I – R = 5-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = H; Me = Zn;  
 II – R = 3-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 2'-CH<sub>3</sub>; Me = Cu;  
 III – R = 5-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 2'-CH<sub>3</sub>; Me = Zn;  
 IV – R = 5-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 4'-CH<sub>3</sub>; Me = Zn;  
 V – R = 3-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 2',5'-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; Me = Cu;  
 VI – R = 5-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 2',4'-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; Me = Zn;  
 VII – R = 5-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 3',4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>; Me = Zn;  
 VIII – R = 3-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 2'-OCH<sub>3</sub>; Me = Cu;  
 IX – R = 3-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 3'-OCH<sub>3</sub>; Me = Zn;  
 X – R = 3-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 4'-OCH<sub>3</sub>; Me = Cu;  
 XI – R = 3-NO<sub>2</sub>; R<sup>1</sup> = 4'-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; Me = Cu.

Рис. 1. Мідні та цинкові комплекси нітрозамішених N-фенілантранілових кислот.

структурою – вольтарен та мефенамову кислоту.

Аналгетичну дію вивчали на білих безпородних щурах-самках масою тіла 110-130 г на моделі оцтовокислих судом [2, 14]. Судоми виникали внаслідок внутрішньочеревного введення 0,75 % розчину оцтової кислоти в об'ємі 1 мл на 100 г маси тварини (контрольна група). Іншій групі мишей внутрішньочеревно вводили мідні комплекси 3-нітро-N-фенілантранілової кислоти в дозі 0,1 DL<sub>50</sub>. Розрахунок кількості судом проводили через 15 хвилин після введення оцтової кислоти протягом 30 хв. За показник аналгетичної дії брали зменшення судом відносно контролю. Як препарат порівняння в експерименті було використано анальгін.

Вивчення жовчогінної активності проводили за методикою Н.П. Скакуна і А.Н. Олейник [10]. Досліджувальні сполуки вводили у дванадцятипалу кишку в дозі 25 мг/кг у вигляді зависі з твіном-80 після першої (фонової) години вивчення швидкості секреції жовчі. Швидкість секреції жовчі виражали у мг/хв на 100 г маси і порівнювали з показником швидкості секреції жовчі інтактних тварин. Рефренс-препаратом був оксафенамід, який вводили в дозі DE<sub>50</sub> = 154,35 мг/кг.

Дослідження бактеріостатичної активності відносно до грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів проводили "in vitro" за методикою двократних серійних розведень [11] у рідкому живильному середовищі (табл. 2). Як живильне середовище було використано водний розчин амінопептиду (рН середовища – 7,2), мікробне навантаження для бактерій складало 2,5×10<sup>5</sup> клітин амінопептидної 18-го-

динної культури в 1 мл середовища. За еталон порівняння було взято етакридину лактат.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вивчення гострої токсичності мідних комплексів 3-нітро-N-фенілантранілових кислот (табл. 1) при внутрішньочеревному введенні дало можливість віднести їх до класу помірно- (II, V, VIII-XI) або малотоксичних речовин (II). На підставі аналізу даних досліджень, проведених раніше [13], зрозуміло, що комплексоутворення призводить до збільшення гострої токсичності. Фармакологічний скринінг на протизапальну та аналгетичну активність у дозі 0,1 DL<sub>50</sub> виявив сполуки з антиексудативним ефектом на рівні ефекту мефенамової кислоти (II, X, XI), однак жодна речовина не перевищувала за своєю дією вольтарен. У зв'язку з тим, що серед похідних N-фенілантранілових кислот є речовини з вираженою жовчогінною дією [12], було цікаво вивчити вплив металокомплексів 3-нітро-N-фенілантранілових кислот на холеретичну активність. Виражений жовчогінний ефект на рівні оксафенаміду в дозі 25 мг/кг проявляв тільки мідний комплекс 3-нітро-N-(4'-етоксифеніл)-антранілової кислоти (XI).

Бактеріостатична активність металокомплексів 3- та 5-нітро-N-фенілантранілових кислот відносно золотистого стафілокока, сінної, кишкової та синьогнійної паличок та мікроорганізмів роду сальмонел знаходилась в межах 31,2-500,0 мкг/мл (МПК). Антимікробна активність нітропохідних N-фенілантранілових кислот тісно пов'язана з будовою, тому за бактеріостатичною дією вони розташовуються в такий ряд: R-іденгідрозиди

Таблиця 1 – Біологічна активність та гостра токсичність металокомплексів нітрозаміщених N-фенілантранілових кислот

Сполука	Протизапальна активність, % у дозі 0,1 DL <sub>50</sub>	Аналгетична активність, % до контролю у дозі 0,1 DL <sub>50</sub>	Жовчогінна дія, % у дозі 25 мг/кг	Гостра токсичність (LD <sub>50</sub> ) при внутрішньочеревному введенні (мг/кг)
II	29,4 ± 4,9	31,2 ± 4,2	15,32	38,0 ± 2,1
V	10,0 ± 0,9	24,6 ± 2,0	17,34	84,1 ± 4,4
VIII	13,0 ± 0,9	13,6	8,52	70,0 ± 4,3
IX	21,5 ± 2,6	17,3 ± 1,9	0	42,0 ± 3,0
X	34,2 ± 4,3	17,3 ± 1,7	0	76,0 ± 6,5
XI	29,1 ± 3,8	-	47,5	102,1 ± 8,1
Вольтарен	38,7 ± 5,3 (DE <sub>50</sub> )	59,0 ± 5,4	-	363
Мефенамова кислота	30,0 ± 3,2 (у дозі 100 мг/кг)	-	-	128/620
Анальгін	-	55,0 (DE <sub>50</sub> )	-	1197
Оксафенамід	-	-	49,4 (DE <sub>50</sub> )	4000

Таблиця 2 – Бактеріостатична активність нітрозаміщених N-фенілантранілових кислот

Сполука	Бактеріостатична активність*, МПК (мкг/мл)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	125	125	62,5	250	125	250	250	125
II	125	125	125	125	250	250	250	250
III	250	250	125	125	125	125	62,5	125
IV	125	250	31,2	500	62,5	62,5	125	125
V	125	125	125	250	250	125	250	250
VI	62,5	250	62,5	500	125	125	62,5	125
VII	62,5	250	125	500	125	62,5	125	62,5
VIII	62,5	125	125	250	250	125	125	125
IX	62,5	125	250	500	250	125	125	125
X	125	125	250	250	125	250	500	500
XI	125	125	125	250	125	250	125	125
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	125

Примітка. \* – як тест-мікроорганізми використовувалися:

1. Staphylococcus aureus;
2. Bacillus subtilis;
3. Escherichia coli;
4. Pseudomonas aeruginosa;
5. Salmonella choleraesuis;
6. Salmonella dublin;
7. Salmonella typhimurium;
8. Salmonella typhisuis.

> гідразида > арилсульфогідразида > металокомплекси > кислоти > метилові ефіри.

ВИСНОВКИ. 1. Шляхом динамічного модифікування структури нітропохідних N-фенілантранілових кислот показано, що металокомплекси 3- та 5-нітро-N-фенілантранілових

кислот проявляють протизапальну, анальгетичну, жовчогінну та бактеріостатичну дію.

2. Встановлено деякі закономірності взаємозв'язку між структурою, активністю і токсичністю серед нітропохідних N-фенілантранілових кислот.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беленький М.А. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – М.: Медгиз, 1963. – 152 с.

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

3. Крисс Е.Е., Волченкова И.Н., Григорьева и др. Координационные соединения в медицине. – К.: Наукова думка, 1986. – 216 с.

4. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ / Под ред. Ф.П. Тринуса. – М., 1983. – 11 с.

5. Пат. 31293 А Україна, МПК С 07 F 13/00. Заміщені 3,5 дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти, що проявляють протизапальну та анальгетичну активність / С.Г. Ісаєв, І.А. Зупанець, О.О. Павлій та ін. (Україна). Заявл. 30.07.1998. Опубл. 15.12.2000. Бюл. № 7-II. – 2 с.

6. Пат.29047 Україна, МПК С 07 D 219/08, А 61K 31/435. 2-етоксі-6,9-діаміноакридинію 2-N-(3'-нітрофеніл) антранілат, який проявляє антимікроб-

ну, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну та кардіопротекторну активність/С.Г. Ісаєв, А.О. Ткач, І.А. Зупанець, та ін. (Україна). Заявл. 23.12.97. Опубл. 16.10.2000. Бюл. № 5-II – 3 с.

7. Рішення про видачу патенту України на винахід по заявці № 98126328, МПК С 07 С 229/58. Спосіб одержання заміщених 3-,4-,5-,6-нітро-N-фенілантранілових кислот / С.Г. Ісаєв, О.І. Павлій, І.А. Зупанець та ін. (Україна). Заявл. 01.12.98. Дата прийняття рішення 06.07.99.

8. Сахарова Т.С. Поиск и фармакологическое изучение гепатопротективных средств в ряду металлокомплексов производных N-фенилантралиновых кислот: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Москва, 1989. – 27 с.

9. Свечнікова О.М. Реакційна здатність, зв'язок структура-біологічна активність та використання похідних N-фенілантранілової кислоти та акридину: Дис. ... д-ра хім. наук. – Харків, 1999. – 396 с.

10. Скакун Н.П., Олейник А.Н. Сравнительные действия атропина и метацина на внесекреторную функцию печени // Фармакол. и токсикол. – 1967. – 30, № 3. – С. 334-337.

11. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Бригера. – М.: Медицина, 1982. – 462 с.

12. Ткач А.А., Исаев С.Г., Зупанец И.А., Минько Л.Н. Синтез, строение, свойства, биологическая активность солей и металлокомплексов N-(R-бензоил)-3,5-дихлорантраниловых кислот / Фармаком. – 1998. – № 5. – С. 58-61.

13. Шульга І.С., Ісаєв С.Г., Березнякова А.І. та ін. Синтез похідних дифеніламіну-2-карбонової кислоти, вивчення їх фізико-хімічних, біологічних властивостей // Фармац. журн. – 1988. – № 1. – С. 42-45.

14. Brune K., Lauz R. Mode of action-peripheral analgesics // Arzneimittel Forsch. – 1984. – **34**, № 9. – S. 1060-1065.

15. Isayev S.G., Minko L.N., Pavliy O.O., Zupanets I.A. The synthesis, structure and biological activity of metal complexes and D-(+)-glicosilammonii salts 3,5-dinitro-2-N-phenylantranilic acids // Drugs for men: International science collected articles of science-practice conference in creating and approving new medicinal preparations. – Moscow, 1998. – Bd. VII. – P. 283-284.

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ НИТРОЗАМЕЩЕННЫХ N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

**А.А. Бризицкий, Е.Н. Свечникова, С.Г. Исаев, С.М. Дрогвоз**  
НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Нитрозамещенные N-фенилантраниловых кислот синтезированы по модифицированной реакции Ульмана в твердой фазе, на их основе получены медные и цинковые комплексы. Строение комплексов подтверждено современными физико-химическими методами анализа. Проведены исследования биологического действия металлокомплексов 3- и 5-нитро-N-фенилантраниловых кислот. Установлено, что металлокомплексы проявляют умеренную противовоспалительную, слабую желчегонную, анальгетическую и бактериостатическую активность. Медные комплексы 3-нитро-N-фенилантраниловых кислот, по классификации К.К. Сидорова, относятся к классу умеренно или малотоксичных веществ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **N-фенилантраниловые кислоты, металлокомплексы, фармакологический скрининг.**

## THE INVESTIGATIONS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF METAL COMPLEXES N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS

**A.A. Brizitsky, E.N. Svechnikova, S.G. Isayev, S.M. Drogovos**  
UKRAINIAN NATIONAL ACADEMY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

Nitrosubstituents of N-phenylantranilic acids are synthesized by Ulman modified reaction in a solid phase and on their basis the copper and zinc complexes are received. The structure of these complexes is confirmed by modern physical and chemical methods of the analysis. The researches of biological action of metal complexes of 3- and 5-nitro-N-phenylantranilic acids are carried out. It is determined, that the metal complexes show average antiinflammatory and weak persecuted gall, analgetical and bacteriostatical activity. Copper complexes of 3-nitro-N-phenylantranilic acids on classification by K.K. Sidorova concern to classes of average or small toxic substances.

KEY WORDS: **N-phenylantranilic acids, metal complexes, pharmacological screening.**

Отримано 15.10.2001 р.

Адреса для листування: О.А. Бризицкий, кафедра аналітичної хімії, Національна фармацевтична академія України, вул. Блюхера, 4, Харків, 61146, Україна.

## ГОРМОНАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ І ОБМІН ЖИРІВ У ЖІНОК З ФІБРОМІОМОЮ МАТКИ І ЦИКЛІЧНИМ БОЛЕМ У МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗАХ

М.Г. Бульса<sup>1</sup>, С.В. Хміль, А.З. Ничик

ЩЕЦИНСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛЬЩА<sup>1</sup>

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Досліджували гормональний профіль та вміст ліпідів у крові жінок з фіброміомою матки та періодичним болем у молочних залозах. Відмічено підвищення рівня загального холестеролу. Виявлено, що у фолікулярній фазі менструального циклу пацієнток має місце підвищення рівня естрадіолу в крові, а в лютеїновій фазі – зниження рівня прогестерону.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **загальний холестерол, естрадіол, прогестерон, пролактин.**

ВСТУП. Виявлення будь-яких аномалій у молочних залозах на тлі інформації про зростання частоти захворюваності на рак молочних залоз спричиняє появу в жінок стресової реакції. Тому періодичний біль у молочних залозах і відчуття набухання сосків, пов'язані зі змінами в організмі протягом менструального циклу, є доволі частою причиною візиту до лікаря [8]. Біль у молочних залозах відмічають приблизно в 50 % жінок [14], причому здебільшого він спостерігається у віковий період між 30 і 50 роками. Цей симптомокомплекс стоїть на стику кількох лікарських спеціальностей і є проблемою діагностики для гінеколога, хірурга, радіолога, мамолога. Слід розрізняти біль у молочних залозах, що з'являється, як правило, в очікуваний час, у певній фазі менструального циклу, та так званий онкологічний біль. У разі появи сумнівів щодо характеру болю слід врахувати й оцінку психологічного статусу пацієнтки [5].

Вважають, що такі скарги спричиняються незбалансованим харчуванням: вживанням їжі з недостатньою кількістю вітамінів А, Е, В і надмірною кількістю жирів та складників, які містяться в каві [9].

Виключення онкологічних захворювань при обстеженні даного контингенту пацієнток є основною метою діагностичного процесу. Тим більше, що часто біль у молочних залозах поєднується з фіброміомою матки. До уваги

© М.Г. Бульса – Ph.D., С.В. Хміль – д.м.н., проф., А.З. Ничик – к.м.н., 2001.

беруться фізіологічні та візуальні дослідження, оцінка гормонального стану, а також раціон харчування. Проте у спеціальній літературі інформація про зміни обміну жирів та концентрації гормонів у жінок з болем у молочних залозах доволі суперечлива [4, 8, 13, 14], а в жінок з масталгією та фіброміомою матки – відсутня взагалі.

Мета дослідження – оцінити характер змін концентрації у крові естрадіолу, прогестерону, пролактину (ПР), холестеролу, фракцій ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), тригліцеролів (ТГ) у жінок з фіброміомою матки та періодичним болем у молочних залозах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 171 жінку віком від 36 до 45 років (у середньому 41,5 років). Усіх пацієнток поділили на дві групи. До першої ввійшло 89 жінок з фіброміомою матки, які скаржилися на періодичний біль у молочних залозах. Останній пацієнтки пов'язували із змінами в організмі протягом менструального циклу. Контрольною групою була популяція 82 здорових жінок, які погодилися на проведення профілактичного обстеження. Менструальний цикл у всіх пацієнток був фізіологічним.

Концентрацію у крові естрадіолу, прогестерону, пролактину визначали за допомогою готових комплектів фірми "Абботт", а рівень холестеролу, тригліцеролів, ЛПВЩ і ЛПНЩ – за допомогою загальноновизначених лабораторних методів.



Кров для дослідження гормонального статусу брали в I і II фази менструального циклу. В I фазі визначали рівні естрадіолу і пролактину, використавши тест із метоклопрамідом, а в II фазі – рівні естрадіолу і прогестерону. День забору крові для аналізів у II фазі менструального циклу визначали в такий спосіб: від тривалості менструального циклу віднімали 7 днів.

Для обидвох груп визначали атеросклеротичний та антропометричний індекси (BMI) (фактична маса тіла (кг)/фактичний зріст, піднесений до квадрата (м<sup>2</sup>)). Результати дослідження було оброблено статистично за допомогою тесту t-Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати дослідження представлено в таблицях 1, 2, 3.

Середній рівень естрадіолу, визначений у I фазі менструального циклу в групі жінок з фіброміомою матки та болем у молочних залозах, становив 248,21 пг/мл, що значно вище ( $p < 0,05$ ), ніж у контрольній групі, де він складав 148,61 пг/мл.

Концентрації вихідного рівня пролактину (ПР I) в обидвох групах істотно не різнилися

( $p > 0,05$ ) і загалом відповідали нормі. Рівень пролактину після призначення метоклопраміду (ПР II) був достовірно вищим ( $p < 0,05$ ) в групі жінок зі скаргами на біль у молочних залозах.

Середній рівень естрадіолу в групі жінок першої групи у II фазі менструального циклу становив (149,05±8,11) нг/мл і був вищим ( $p < 0,05$ ), ніж у жінок контрольної групи. Проте він не перевищував межі норми.

Концентрація прогестерону в крові жінок з періодичним болем у молочних залозах у середньому суттєво не відрізнялася від нижньої межі норми. Вона становила (2,23±0,47) нг/мл і була значно нижчою ( $p < 0,001$ ), порівняно з параметрами контрольної групи пацієток.

Дослідження, проведені A.J. Rapkin [11], показали зниження рівня алопрегнанолону в лютеїновій фазі менструального циклу при нормальному рівні прогестерону. За даними B. Hinney [4], в пацієток з фіброміомою матки та болем у молочних залозах у лютеїновій фазі менструального циклу, порівняно з контрольною групою, виявляють зниження концентрації прогестерону. Разом із тим, рівень естрадіолу протягом менструального циклу суттєво не

Таблиця 1 – Рівень естрадіолу, пролактину в тесті з ТМС у I фазі менструального циклу

Показник	Досліджувана група (n=89)	Контрольна група (n=82)	P
Естрадіол, пг/мл	248,21±116,15	148,61±60,81	<0,05
ПР I, нг/мл	15,93±4,47	16,34±7,32	>0,05
ПР II, нг/мл	184,32±45,13	131,15±39,56	<0,05
%	1157,06±973,83	802,63±532,97	

Примітка. Норма концентрації естрадіолу в крові для фолікулінової фази менструального циклу становить від 39 до 189 пг/мл. Верхня межа норми ПР складає 22,5 нг/мл.

Таблиця 2 – Рівень естрадіолу і прогестерону в II фазі менструального циклу

Показник	Досліджувана група (n=89)	Контрольна група (n=82)	P
Естрадіол, пг/мл	149,05±8,11	128,56±7,38	<0,05
Прогестерон, нг/мл	2,23±0,47	17,89±0,41	<0,001

Примітка. Норма концентрації в крові естрадіолу для лютеїнової фази менструального циклу становить від 48 до 309 пг/мл, прогестерону – від 1,5 до 20,0 нг/мл.

Таблиця 3 – Рівень загального холестеролу, ЛПВЩ, ЛПНЩ, ТГ і атеросклеротичний індекс в обстежуваних пацієток у II фазі менструального циклу

Показник	Досліджувана група (n=89)	Контрольна група (n=82)	P
Холестерол загальний, мг %	198,78±25,36	145,07±31,02	<0,01
ЛПВЩ, мг %	58,61±12,22	55,64±28,79	>0,05
ЛПНЩ, мг %	98,45±24,59	91,36±31,47	>0,05
ТГ, мг %	75,38±94,73	64,84±89,13	>0,05
Холестерол/ЛПВЩ	3,39±0,11	2,60±0,14	<0,05

Примітка. Норма концентрації у крові жінок загального холестеролу становить від 140 до 200 мг %, ЛПВЩ – від 45 до 75 мг %, ЛПНЩ – від 65 до 130 мг %, ТГ – від 40 до 140 мг %, атеросклеротичного індексу (холестерол/ЛПНЩ) – менше 4.

відрізнявся від нормальних параметрів. Загалом ці результати підтверджуються нашими дослідженнями.

За даними літератури, знижений рівень прогестерону в лютеїновій фазі менструального циклу пропонується поповнювати. Дослідження цього напрямку проводили D.M. Euhus та його співробітники, які виявили, що, порівняно з жінками, які не лікуються, в пацієнок, які приймають прогестерон, біль у молочних залозах виникає рідше [2]. C. Nappi та його співробітники при лікуванні масталгії вводили прогестерон у піхву і виявили позитивний результат у 64,9 % осіб. Больовий синдром при цьому оцінювали об'єктивно за допомогою больової шкали. Зниження больових відчуттів відмічено в 50 % пацієнок [10]. P.R. Maddox та його співробітники виявили, що застосування прогестерону в лютеїновій фазі менструального циклу при лікуванні болю молочних залоз не дає результатів [7].

M. Leonardi [6] при лікуванні періодичної масталгії використав естропрогестаген (мінулет), оцінюючи реакцію на лікування за допомогою 4-ступеневої больової шкали Cardiff Breast Score. Автор вважає, що такого типу лікування є доцільним при лікуванні даного виду патології.

Під час проведення досліджень нами не виявлено проявів підвищення рівня пролактину, а була лише активна гіперпролактинемія. Вищеописані результати загалом збігаються з іншими опублікованими роботами [1, 12]. Відомо, що нормальний вихідний рівень пролактину та вирівнювання активної гіперпролактинемії дозволяють нормалізувати рівень прогестерону та обміну жирів [14].

Рівень загального холестеролу в групі жінок з періодичним болем у молочних залозах становив у середньому (198,78±25,36) мг % і був значно вищим ( $p < 0,01$ ), ніж у контрольній групі пацієнок. Проте отримані результати сут-

тєво не відрізнялися від параметрів верхньої межі норми ( $p > 0,05$ ). Рівні ЛПНЩ, ЛПВЩ і ТГ у досліджуваних групах загалом знаходилися в межах норми. Значення атеросклеротичного індексу (тобто співвідношення значень концентрації у крові загального холестеролу до ЛПВЩ) в обидвох групах суттєво від норми не відрізнялося ( $p > 0,05$ ), але в групі жінок з фіброміомою матки та болем у молочних залозах цей показник був достовірно вищим ( $p < 0,05$ ) від параметрів контрольної групи. У жінок з болем у молочних залозах, на відміну від пацієнок контрольної групи, виявлено підвищений рівень загального холестеролу, але він знаходився в межах прийнятої норми. Імовірно, раціональне харчування не лише запобігає захворюванням обміну, а й може впливати на біль у молочних залозах. Подібні спостереження були проведені A.K. Sharma та його співробітниками, котрі порівнювали параметри обміну жирів у жінок, які страждають від періодичного і неперіодичного болю в молочних залозах [14].

У I групі пацієнок показник BMI в середньому становив 24,5±2,8, а в контрольній групі – 26,7±1,9 ( $p > 0,001$ ). Звідси випливає, що досліджувані групи практично не відрізнялися одна від одної.

Вищеописані проблеми видаються доволі вагомими з тієї причини, що постійний біль у молочних залозах у пацієнок з фіброміомою матки може стати причиною появи канцерофобії і тим самим змінити якість життя [3].

**ВИСНОВКИ.** 1. У жінок з фіброміомою матки та циклічним болем у молочних залозах виявлено підвищений рівень естрадіолу в фолікулярній фазі та знижений рівень прогестерону в лютеїновій фазі менструального циклу.

2. У жінок з фіброміомою матки та циклічним болем у молочних залозах відзначено підвищений рівень загального холестеролу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Dogliotti L., Mussa A., Sandrucci S. Prolactin and benign breast disease with special emphasis to bromocriptine therapy / In: Endocrinology of Cystic Breast Disease. – New York: Raven Press, 1983. – 273 p.
2. Euhus D.M., Uyehara C. Influence of parenteral progesterones on the prevalence and severity of mas-

algia in premenopausal women: a multi-institutional cross-sectional study // J. Am. Coll. Surg. – 1997. – **184**. – P. 596-604.

3. Goodwin P.J., Miller A., Del Giudice M.E., Ritchie K. Breast health and associated premenstrual symptoms in women with severe cyclic mastopathy // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1997. – **176**. – P. 998-1005.

4. Hinney B., Henze C.J., Cuhn W., Wutke W. The corpus luteum deficiency: a multifactorial disease // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1996. – **81**. – P. 365-370.
5. Johnson S. Clinician's approach to the diagnosis and management of premenstrual syndrome // Clin. Obst. Gynecol. – 1992. – **35**. – P. 637-657.
6. Leonardi M. Contraccezione ormonata e patologia mammaria benigna // Minerva Ginecol. – 1997. – **49**. – P. 271-276.
7. Maddox P.R., Harrison B.J., Horobin J.M. et al. A randomised controlled trial of medroxyprogesterone acetate in mastalgia // Ann. R. Coll. Surg. Engl. – 1990. – **72**. – P. 71-76.
8. Mansel R.E. The clinical assessment of mastalgia // Br. J. Clin. Pract. Symp. Suppl. – 1989. – **68**. – P. 17-21.
9. Minton J.P., Foecking M.K., Webster D.J. Caffeine, cyclic nucleotides and breast disease // Surgery. – 1979. – **86**. – P. 105-109.
10. Nappi C., Affinito P., Di Carlo C et al. Double-blind controlled trial of progesterone vaginal cream treatment for cyclical mastodynia in women with benign breast disease // J. Endocrinol. Invest. – 1992. – **15**. – P. 801-806.
11. Rapkin A.J., Morgan M., Goldman L. et al. Progesterone metabolite allopregnanolone in women with premenstrual syndrome // Obst. Gynecol. – 1997. – **90**. – P. 709-714.
12. Santoro C., Cappa M., Moretti C. et al. Treatment of benign fibrocystic disease of the breast with 2-bromo-alpha-ergocryptine (CB-154) bit // J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. – 1982. – **20**. – P. 479-485.
13. Sharma A.K., Mishra S.K., Salila M. et al. Cyclical mastalgia-is it a manifestation of aberration in lipid metabolism // Ind. J. Physiol. Pharmacol. – 1994. – **38**. – P. 267-271.
14. Warenik-Szymankiewicz A. Mastopatia-jej hormonalne uwarunkowanie i terapia // Gin Pol. – 1992. – **63**. – P. 356-359.

## ГОРМОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ И ОБМЕН ЖИРОВ У ЖЕНЩИН С ФИБРОМИОМОЙ МАТКИ И ЦИКЛИЧЕСКОЙ БОЛЬЮ В МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗАХ

**М.Г. Бульса<sup>1</sup>, С.В. Хміль, А.З. Нычык**

ЩЕЦИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛЬША<sup>1</sup>

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

Исследовали гормональный профиль и содержимое липидов в крови женщин с фибромиомой матки и периодической болью в молочных железах. Отмечено повышение уровня общего холестерина. Обнаружено, что в фолликулярную фазу менструального цикла таких пациенток имеет место повышение уровня эстрадиола в крови, а в лютеиновую фазу – снижение уровня прогестерона.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **общий холестерол, эстрадиол, прогестерон, пролактин.**

## HORMONAL PROFILE AND LIPID METABOLISM IN FEMALES WITH UTERUS FIBROMYOMA AND CYCLIC PAIN IN BREASTS

**M. Balsa<sup>1</sup>, S. Khmil, A. Nychyk**

SCHECIN STATE MEDICAL ACADEMY, POLAND<sup>1</sup>

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY IM. I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

Hormonal profile and lipid contents in blood of the females with uterus fibromyoma and periodic pain in breasts have been investigated. The level of general cholesterol was marked to increase. There was revealed the increase of estradiol level in blood within follicular phase of menstrual cycle of such patients and decrease of progesteron level within luteal phase.

KEY WORDS: **general cholesterol, estradiol, progesteron, prolactin.**

Отримано 24.07.2000 р.

Адреса для листування: С.В. Хміль, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, кафедра акушерства і гінекології, вул. Замкова, 10, Тернопіль, 46001, Україна.

## ВПЛИВ НАСТОЯНКИ ПЕРСТАЧУ ПРЯМОСТОЯЧОГО НА ГЛУТАТІОНОВУ СИСТЕМУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

Н.Б. Тефтьєва, І.М. Яремій, Н.П. Григор'єва  
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

*Досліджено ефективність застосування настоянки перстачу прямостоячого (НПП) при токсичному гепатиті, викликаному тетрахлорметаном. Показано, що внутрішньошлункове введення інтоксикованим тетрахлорметаном щурам НПП у дозі 0,1 мл на 100 г маси тіла протягом 7 діб знизило в печінці рівень малонового діальдегіду, нормалізувало активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази. Застосування НПП упродовж 14 днів ще в більшому ступені сприяло нормалізації вмісту малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та активності досліджуваних ферментів глутатіонової ланки антиоксидного захисту печінки щурів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** перекисне окиснення ліпідів, тетрахлорметан, відновлений глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза.

ВСТУП. Згідно із сучасними уявленнями [2, 8], при різних захворюваннях, стресових станах, негативному впливі зовнішніх факторів має місце підвищення в тканинах організму концентрації вільних радикалів, що сприяє прогресуванню патологічного процесу. Вільнорадикальні процеси є пусковим механізмом гепатотоксичної дії тетрахлорметану, за умов отруєння тварин  $CCl_4$  в клітині порушується окисно-антиоксидна рівновага [5, 11, 15]. Корекція таких порушень передбачає введення в організм екзогенних антиоксидантів, зокрема рослинного походження. Цікавим у цьому плані, на нашу думку, є перстач прямостоячий (*Potentilla erecta*, Rausch L.), який у народній медицині відомий ще з часів Гіппократа [1, 16].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З висушеного кореневища ми виготовили настоянку 1:5 на 40 % етиловому спирті згідно з вимогами державної Фармакопеї (сертифікат аналізу контрольно-аналітичної лабораторії м. Чернівців, від 26.01.2001 № 57).

Експериментальні дослідження проводили на 60 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях масою  $(200,0 \pm 10,0)$  г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Їх поділили на три групи: 1 – інтактні тварини; 2 – тварини після введення  $CCl_4$ ; 3 – уражені  $CCl_4$ , яким

© Н.Б. Тефтьєва, І.М. Яремій – к.б.н., Н.П. Григор'єва – к.б.н., 2001.

вводили настоянку перстачу прямостоячого (НПП) в дозі 0,1 мл на 100 г маси щура. Токсичний гепатит викликали шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення тваринам 50 % олійного розчину  $CCl_4$  із розрахунку 0,25 мл на 100 г маси [13]. Настоянку розводили дистильованою водою і вводили внутрішньошлунково протягом 14 днів після інтоксикації. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 7 та 14 діб після початку введення НПП. Показники окисного та антиоксидного стану печінки щурів визначали в постядерному супернатанті 5 % гомогенату, який готували на 50 мМ трис-НСІ-буфері (рН-7,4).

Про стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) печінки щурів судили за концентрацією малонового діальдегіду (МДА) [4], яку виражали в мкмоль/г тканини.

Активність каталази [КФ 1.11.1.6.] визначали спектрофотометрично [10] і розраховували в мкмоль  $H_2O_2$ /хв · мг білка. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [КФ 1.1.1.49] – за методом Ю.Л. Захар'їна [7, 20] і виражали в нмолях утвореного НАДФН/хв · 1мг білка. Про активність глутатіонредуктази [КФ 1.6.4.2] судили за зменшенням кількості НАДФН, використаного в реакції, і виражали в нмоль НАДФН/хв · мг білка [18]. Про активність глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] судили за кількістю окисненого глутатіону і виражали в нмолях утвореного окисненого глутатіону за

1 хв на 1 мг білка. Вміст білка в пробах визначали біуретовим методом [9]. Активність глутатіон-S-трансферази [КФ 2.5.2.18] – за кількістю утвореної кон'югати відновленого глутатіону із субстратом 1-хлор-2,4динітробензолом [19] і виражали в нмоль кон'югати/хв · мг білка. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за методом [13] і розраховували в мкмоль/г тканини печінки.

Одержані результати обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента [14].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як відомо [6, 11], тетрахлорметан є гепатотропною отрутою. Більшість ксенобіотиків, які потрапляють в організм, піддаються окиснювальному метаболізму в мембранах ендоплазматичного ретикулула печінки. Побічним ефектом окиснення токсинів цитохром-Р-450-залежною монооксигеназною системою є утворення вільних радикалів та активних метаболітів, здатних ініціювати ПОЛ у мембранах гепатоцитів. Це, зрештою, призводить до суттєвих порушень структури та функції гепатоцитів (цитотоксичний вплив тетрахлорметану на клітинні мембрани гепатоцитів) [5, 6, 11]. Однією з найважливіших ланок патогенезу захворювань печінки є активація процесів ПОЛ [8, 11, 15]. Рівень накопичення продуктів ПОЛ при ураженні печінки, як відомо, визначається не лише утворенням вільних радикалів, але й функціонуванням захисної антиоксидної

системи клітини [3, 5, 6], зокрема функціонуванням глутатіонової ланки антиоксидного захисту печінки щурів [12, 13].

Результати проведеного нами експерименту показали (табл. 1), що через 7 діб у печінці інтоксикованих тетрахлорметаном щурів спостерігалось значне (на 80 %), порівняно з контролем, підвищення рівня малонового діальдегіду. Порівняно з показниками групи інактивних тварин підвищився рівень відновленого глутатіону (на 26,5 %) та зросла активність ферментів його обміну: глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (на 14,3 %), глутатіонредуктази (на 15,3 %) і глутатіонпероксидази (на 36,6 %). Це, можливо, слід розцінювати як компенсаторну реакцію з боку організму тварин у відповідь на посилення процесів ПОЛ при отруєнні щурів тетрахлорметаном.

Активність каталази в печінці отруєних тварин (7 діб) знизилась на 26,2 %, а глутатіон-S-трансферази – на 27,8 %, порівняно з контролем, що свідчить про недостатність компенсаторних механізмів печінки щурів у детоксикації продуктів ПОЛ.

Введення тваринам НПП у дозі 0,1 мл на 100 г маси щура на фоні післядії  $CCl_4$  протягом 7 діб зменшило вміст МДА в печінці щурів на 10 %, порівняно з групою інтоксикованих тварин, яких не лікували. Препарат нормалізував активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази. Активність каталази та глутатіон-S-трансферази була на 18 і 34 % вищою, ніж у

Таблиця 1 – Вплив настоянки перстачу прямоствоячого на оксидантно-антиоксидний стан печінки щурів за умов токсичного гепатиту ( $M \pm m$ ;  $n=8$ )

Умови досліджу	Досліджувані показники						
	Малоновый діальдегід, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв·мг білка	Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа, нмоль/хв·мг білка	Глутатіон редуктаза, нмоль/хв·мг білка	Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	Глутатіон-пероксидаза, нмоль/хв·мг білка	Глутатіон-S-трансфераза, нмоль/хв·мг білка
Контроль	38,09±1,70	172,00±12,36	7,70±0,29	3,45±0,23	7,24±0,10	186,0±17,6	53,70±1,46
Інтоксикація $CCl_4$ (7 діб)	68,53±1,75*	127,00±6,75*	8,80±0,46*	3,98±0,22*	9,16±0,27*	254,0±20,4*	38,80±3,26*
Інтоксикація +НПП (7 діб)	61,60±1,58*	150,00±5,93*	7,35±0,28	3,74±0,16	8,40±0,18*	195,0±13,3	52,20±2,14
Інтоксикація $CCl_4$ (14 діб)	46,16±1,76*	151,00±5,78*	7,90±0,32	3,87±0,32	8,32±0,21*	279,00±14,63*	42,10±0,92*
Інтоксикація +НПП (14 діб)	36,03±1,64	159,00±7,86	7,80±0,27	3,57±0,21	7,26±0,20	191,00±14,11	54,80±1,45

Примітка. \* – зміни достовірні порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ).

групі нелікованих тварин. Під дією НПП швидше відбувалась нормалізація рівня відновленого глутатіону.

Через 14 діб після інтоксикації  $CCl_4$  вміст МДА знизився, порівняно з попереднім строком, але залишався вищим, ніж у тварин контрольної групи (на 21 %). Активність глутатіон-S-трансферази підвищилась, але залишилась на 21,6 % нижчою, ніж у інтактних щурів. Активність каталази значно зросла, але була на 12 % нижчою, ніж у тварин контрольної групи. Вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонпероксидази залишались вищими, відповідно на 15 і 50 % від рівня щурів контрольної групи.

Застосування НПП на тлі післядії тетрахлорметану протягом 14 діб із метою корекції порушень окисдно-антиоксидного статусу організму сприяло нормалізації вмісту МДА, відновленого глутатіону та активності досліджуваних ферментів антиоксидного захисту.

Отже, досліджуваний препарат НПП відзначається високою активністю при токсичних ураженнях печінки і проявляє виражену антиоксидну дію, що, очевидно, і зумовлює його гепатозахисні властивості. Антиоксидні властивості НПП, можливо, пов'язані з наявністю в рослині великої кількості флавоноїдів [16], яким, як відомо, притаманні виражені антиоксидні властивості [2,17].

**ВИСНОВКИ.** 1. Введення інтоксикованим тетрахлорметаном щурам НПП у дозі 0,1 мл на 100 г маси тіла протягом 7 діб знизило в печінці рівень малонового діальдегіду, нормалізувало активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази.

2. Застосування НПП протягом 14 діб сприяє нормалізації вмісту малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та досліджуваних ферментів глутатіонової ланки антиоксидного захисту печінки щурів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Андрукович А.И. О применении отвара лапчатки прямостоячей для лечения гепатитов и циррозов печени // I съезд терапевтов Тюменской обл.: Тез. докл. – Тюмень, 1970. – С. 48.
2. Барабой В.А., Хомчук Ю.В. Механизм антистрессового и противолучевого действия растительных фенольных соединений // Укр. биохим. журн. – 1998. – **70**, № 6. – С. 13-23.
3. Венгеровский А.И., Батурина Н.О., Чучалин В.С., Саратиков А.С. Влияние гепатопротекторов, содержащих полифенолы, на течение экспериментального хронического гепатита // Хим.-фарм. журн. – 1996. – **30**, № 1. – С. 3-4.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
5. Гонский Я.И., Корда М.М., Клищ И.Н., Фира Л.С. Роль антиоксидантной системы в патогенезе токсического гепатита // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1996. – № 2. – С. 43-45.
6. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.
7. Захарьин Ю.Л. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы // Лаб. дело. – 1967. – № 6. – С. 327-330.
8. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии (обзор) // Вопр. мед. химии. – 1985. – **31**, вып. 5. – С. 2-7.
9. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 290 с.
10. Корольюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
11. Костюк В.А. Роль ковалентного связывания и перекисного окисления липидов в повреждении печени четыреххлористым углеродом // Биохимия. – 1991. – **56**, № 10. – С. 1878-1885.
12. Мещишен І.Ф. Глутатіонова система організму за умов норми та патології. – Чернівці: Мед-академія, 1999. – 26 с.
13. Мещишен І.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додефония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Дис... д-ра биол. наук. – Черновцы, 1991. – 254 с.
14. Проданчук Н.Г., Дейнека С.Е., Вильшанский Е.Я. Актуальные проблемы лекарственной токсикологии. – М.: Медицина, 1990. – Ч. 2. – 236 с.
15. Сервецький К.Л., Нікітін Е.В., Лапай В.С. Стан процесів перекисного окислення ліпідів у хворих на хронічні вірусні гепатити // Одеський мед. журн. – 1998. – **45**, № 1 – С. 29-30.
16. Триль В.М., Шишикина Е.С. Биологическая активность представителей рода *Potentilla L.* и перспективы их использования в народном хозяйстве // Ресурсы и интродукция полезных растений Сиби-

ри. – Новосибирск: Наука, 1981. – С. 147-154.

17. Чекман І.С. Флавоноїди – клініко-фармакологічний аспект // Фітотер. в Україні. – 2000. – № 2. – С. 3-5.

18. Beutler E. Effect of flavin compounds on glutathione reductase activity: in vitro and in vivo studies // J. Clin. Invest. – 1969. – **48**, № 11. – P. 1957-1965.

19. Habig H.W., Pabs M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-Transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – **249**, № 22. – P. 7130 – 7139.

20. Kornberg A., Horecker B.L. Glucoso-6-Pdehydrogenase // Method in Enzymol. – 1955. – **1**. – P. 329-350.

## ВЛИЯНИЕ НАСТОЙКИ ЛАПЧАТКИ ПРЯМОСТОЯЧЕЙ НА ГЛУТАТИОНОВУЮ СИСТЕМУ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

**Н.Б. Тефтьюева, И.Н. Яремий, Н.Ф. Григорьева**  
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

### Резюме

Исследовано эффективность применения настойки лапчатки прямостоячей (НПП) при токсическом гепатите, вызванном тетрахлорметаном. Показано, что внутривенное введение интоксцированным тетрахлорметаном крысам НПП в дозе 0,1 мл на 100 г массы тела на протяжении 7 суток снизило в печени уровень малонового диальдегида, нормализовало активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы. Применение НПП на протяжении 14 дней способствовало нормализации содержания малонового диальдегида, восстановленного глутатиона и исследуемых ферментов глутатионного звена антиоксидантной защиты печени крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, тетрахлорметан, восстановленный глутатион, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза

## THE INFLUENCE OF THE POTENTILLA ERECTA SPIRITUOUS TINCTURE ON THE GLUTATHIONE SYSTEM OF RAT LIVER AT TOXIC HEPATITIS

**N.B. Teftiyeva, I.M. Yaremiy, N.P. Grygorieva**  
BUKOVINIAN STATE MEDICAL ACADEMY

### Summary

Effect of *Potentilla Erecta* tincture application at toxic hepatitis caused by tetrachlormetane has been investigated. Decreasing the content of malonic aldehyde, normalizing the activity of glucoso-6-phosphate dehydrogenase, glutathione reductase and glutathioneperoxidase at toxic hepatitis and use the *Potentilla Erecta* tincture at dose of 0,1 ml/100 g for 7-day long have been shown. The application of *Potentilla Erecta* tincture 14-day long normalized the content of malonic dialdehydyde, reduced glutathione and investigated enzymes of glutathione link of antioxidant system in the liver of the rats.

KEY WORDS: lipid peroxidation, tetrachlormetane, reduced glutathione, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase.

Отримано 4.05.2001 р.

Адреса для листування: Н.Б. Тефтьюева, кафедра медичної хімії, БДМА, вул. Богомольця, 2, Чернівці, 58001, Україна.

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОЛІПІДЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ НА ОСНОВІ ДУБИЛЬНИХ РЕЧОВИН

Т.С. Сахарова

НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

*Проведено експериментальне дослідження гіполіпідемічної активності рослинних антиоксидантів на основі дубильних речовин – альтану та елагової кислоти – порівняно з препаратами біофлавоноїдного складу – кверцетином та силібором. Показано, що препарати дубильних речовин попереджають розвиток експериментальної гіперліпідемії у білих щурів, не поступаючись за ефективністю біофлавоноїдним препаратам та проявляючи гіпохолестеринемічний ефект у значно менших дозах, ніж кверцетин та силібор.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** дубильні речовини, біофлавоноїди, гіперліпідемія, гіполіпідемічний ефект, вільнорадикальне окиснення, антиоксидний захист.

ВСТУП. Сучасні відомості про множинність патогенетичних ланок атеросклерозу є теоретичним обґрунтуванням створення антисклеротичних препаратів, спроможних комплексно коригувати метаболічні порушення, стан судинної стінки, систему гемостазу при зазначеному захворюванні. Цим вимогам відповідають препарати рослинного походження, які в основі хімічної будови містять поліфенольну структуру. Так, численні дані літератури висвітлюють антисклеротичну активність кверцетину та його похідних через призму їхньої гальмівної дії на перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) як складових атерогенних ліпопротеїнів, так і клітинних мембран судинної стінки [1, 4, 11]. З іншого боку, кверцетин – неспецифічний блокатор окремих ланок поліфосфоінозитидної сигнальної системи, відповідальної за стан гладеньких м'язів судин, процеси тромботворення. Безперечною є участь кверцетину та інших флавоноїдів (вітаміну Р) у обміні глюкозаміногліканів сполучної тканини судинної стінки [4]. Проте в доступних нам наукових джерелах ми не зустріли інформації про дослідження антисклеротичної/гіполіпідемічної дії рослинних дубильних речовин, які належать до одного фітохімічного класу з біофлавоноїдами й для яких на сьогодні визначено різнобічну фармакологічну активність [1].

Метою даної експериментальної роботи стало дослідження потенційних гіполіпідемічних властивостей препаратів, одержаних на основі дубильних речовин вільхи клейкої та сіпої (*Alnus glutinosa* L. і *Alnus cinerea* L. (*Betula-*

© Т.С. Сахарова – к.фарм.н., 2001.

сеае)) – альтану й елагової кислоти – порівняно з препаратами біофлавоноїдного складу кверцетином та силібором. Діючим компонентом обох оригінальних препаратів є елагова кислота з класу гідролізуючих дубильних речовин (у складі альтану елагова кислота має вигляд елаготанінів).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 60 безпородних білих щурах-самцях масою 160-180 г, яких поділили на 6 груп: 1 – група інтактного контролю; 2 – група контрольної патології; 3, 4, 5, 6 – дослідні групи щурів, лікованих, відповідно, елаговою кислотою, альтаном, силібором та кверцетином. Моделювання експериментальної гіперліпідемії у тварин групи контрольної патології та 4 дослідних груп здійснювали шляхом щоденного, протягом 24 діб, перорального введення масляного розчину холестерину в дозі 0,5 г/кг на тлі дієти, збагаченої 30 % вмістом насичених жирів [3]. Введення досліджуваних препаратів в умовно-терапевтичних дозах (елагова кислота та альтан – 1 мг/кг, силібор – 25 мг/кг, кверцетин – 5 мг/кг) мало лікувально-профілактичний характер і тривало впродовж усього терміну експерименту. Щури групи інтактного контролю знаходились на звичайному раціоні віварію. Для оцінки стану ліпідного обміну в організмі тварин до початку експерименту та після його закінчення визначали такі показники: вміст загальних ліпідів (ЗЛ), загального холестерину (ЗХ), ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) із застосуванням наборів фірми "Lachema" (Чехія), триацилгліцеринів (ТАГ) за допомогою



набору фірми "Eagle Diagnostics" (США), вміст ацилгідроперекисів (ГП) [2], дієнових кон'югат (ДК), малонового діальдегіду (МДА) [7]. У гомогенатах печінки визначали вміст ДК, МДА та відновленого глутатіону (GSH), досліджували також інтенсивність жовчоутворення та жовчовиділення [7], вміст у жовчі холестерину та жовчних кислот [6]. Обробку даних здійснювали варіаційно-статистичним методом із використанням критерію Стюдента (t).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** З даних, наведених у таблиці 1, видно, що утримування інтактних тварин на раціоні віварію протягом 24 діб не змінювало значень інтегральних тестів обміну ліпідів, що дозволило провести порівняння відповідних показників інших дослідних груп з інтактними значеннями в завершальний термін експерименту. Стосовно до інтактного контролю у щурів групи контрольної патології на момент завершення моделювання експериментальної гіперліпідемії показник загальних ліпідів достовірно зростає у 1,7 раза, що зумовлювалось, перш за все, збільшенням у їхній структурі (у 7,5 раза) вмісту ЛПНЩ.

Про переважання серед ліпопротеїнових фракцій сироватки крові саме ЛПНЩ свідчить також збільшення в 4,9 раза вмісту ЗХ та у 2,2 раза концентрації ТАГ, які є типовими складовими компонентами ЛПНЩ. Накопичення та якісний стан атерогенних ліпопротеїнів – один

із провідних чинників ініціації атеросклерозу [9, 10]. Розвиток гіпербеталіпопротеїнемії закономірно супроводжується посиленням перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [5, 10]. Пряма залежність між рівнем гіперліпідемії та активацією ПОЛ підтверджується достовірно значущим зростанням у сироватці крові та у гомогенатах печінки щурів групи контрольної патології продуктів ліпопероксидації – ГП, ДК, МДА (табл. 2). Про переважання процесу перекисної руйнації ліпідних структур гепатоцитів свідчить також виразна тенденція до зменшення (в 1,6 раза) вмісту відновленого глутатіону печінки.

Порушення ліпідного обміну позначились на процесі утилізації холестерину в печінці. Надлишок екзогенного холестерину та насичених жирних кислот у раціоні білих щурів спричинив достовірне зростання концентрації як холестерину в жовчі, так і продуктів його підсумкового перетворення – жовчних кислот. Проте накопичення холестерину переважало можливості печінки з його переробки, про що свідчать достовірно до інтактного значення зниження холато-холестеринового коефіцієнта та відсутність зміни швидкості виділення жовчі (табл. 3).

Отже, тривале внутрішньошлункове введення білим щурам холестеринової дієти моделювало в контрольних тварин стан гіперліпідемії, яка супроводжувалась переважанням перекисних механізмів катаболізму ліпідів.

Таблиця 1 – Вплив досліджуваних препаратів на показники ліпідного обміну при експериментальній гіперліпідемії в білих щурах

Показники	Дослідні групи тварин						
	Інтактний контроль		Контрольна патологія	Патологія+ елагова кислота, 1 мг/кг	Патологія+ альтан, 1 мг/кг	Патологія+ силібор, 25 мг/кг	Патологія+ кверцетин, 5 мг/кг
	Вихідні дані	Через 24 доби					
Загальні ліпіди, г/л	3,99±0,41	3,74±0,60	6,42±0,32*	5,14±0,25**	5,13±0,35**	4,85±0,31**	5,05±0,32**
Загальний холестерин, ммоль/л	1,12±0,10	1,13±0,12	5,56±0,67*	0,83±0,09**	1,05±0,21**	1,13±0,13**	1,00±0,15**
Триацилгліцерини, ммоль/л	0,81±0,03	0,82±0,08	1,81±0,09*	0,97±0,12**	0,91±0,10**	0,96±0,11**	1,00±0,15**
ЛПНЩ, г/л	0,27±0,03	0,32±0,05	2,4±0,31*	0,41±0,05**	0,38±0,04**	0,40±0,03**	0,42±0,05**

Примітка. Тут і в наступних таблицях: \* – відхилення достовірно відносно інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – відхилення достовірно відносно контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 2 – Вплив досліджуваних препаратів на показники стану ПОЛ у сироватці крові при експериментальній гіперліпідемії в білих щурах

Показники	Дослідні групи тварин					
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Патологія+ елагова кислота, 1 мг/кг	Патологія+ альтан, 1 мг/кг	Патологія+ силібор, 25 мг/кг	Патологія+ кверцетин, 5 мг/кг
ГП, $\Delta D_{233}/1$ мл сироватки	0,60±0,10	1,47±0,11*	0,75±0,15**	0,83±0,14**	1,07±0,13**	0,99±0,17**
ДК, мкмоль/л	0,035±0,006	0,101±0,014*	0,055±0,007**	0,056±0,009**	0,052±0,007**	0,052±0,009**
МДА, мкмоль/л	0,55±0,09	1,08±0,10*	0,65±0,08**	0,66±0,10**	0,72±0,09**	0,73±0,12**

Таблиця 3 – Вплив досліджуваних препаратів на показники стану ПОЛ у гомогенатах печінки та жовчоутворювальну функцію печінки

	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Патологія+ елагова кислота, 1 мг/кг	Патологія+ альтан, 1 мг/кг	Патологія+ силібор, 25 мг/кг	Патологія+ кверцетин, 5 мг/кг
GSH, мг%	35,0±4,8	21,3±4,6	39,9±6,0**	39,4±6,3**	41,6±6,7**	42,7±5,5**
ДК, мкмоль/г	3,75±0,73	9,36±1,61*	4,46±0,92**	4,77±1,17**	6,63±1,06*	5,30±0,99
МДА, мкмоль/г	50,86±8,89	100,85±11,37*	58,98±7,24**	63,68±7,24**	69,45±6,20**	69,23±11,79**
Швидкість секреції жовчі, мг/хв	6,93±1,45	4,92±1,20	6,40±1,35	5,94±0,90	6,64±1,51	6,47±1,17
Жовчні кислоти, мг/100 мл	333,5±15,1	393,2±10,9*	380,2±28,0	405,3±13,2*	409,1±35,2	397,7±22,3*
Холестерин у жовчі, мг/100 мл	15,4±1,4	24,8±1,7*	13,9±1,0**	19,3±2,0	18,8±0,9**	15,7±1,2**
Холатохолестериновий коефіцієнт	21,9±1,0	15,9±0,7*	27,3±0,5*/**	21,3±1,5**	21,7±0,8**	25,4±1,0*/**

Під впливом елагової кислоти, альтану, силібору та кверцетину порушення ліпідного обміну мали чіткий регресивний характер. Показники вмісту ЗЛ, ТАГ у тварин усіх дослідних груп достовірно зменшувалися, порівняно з контрольною патологією. Ще більш виразною була нормалізація вмісту ЛПНЩ та ЗХ у сироватці крові, показники яких досягали меж інтактних значень. Елагова кислота та кверцетин виявили тенденцію до гіпохолестеринемічного ефекту, хоча й недостовірну відносно інтактного контролю (табл. 1). Гіполіпідемічна дія препаратів мала місце на тлі достовірно значущого гальмування накопичення продуктів ПОЛ у сироватці крові під впливом усіх досліджуваних препаратів. Слід зазначити, що під впливом препаратів дубильних речовин зменшення вмісту як первинних, так і вторинних продуктів ліпопероксидації відбувалось динамічніше, ніж під впливом біофлавоноїдних препаратів. Так, при застосуванні силібору рівень ГП достовірно відрізнявся від контрольної патології, проте перевищував інтактне значення (табл. 2). У гомогенатах печінки при введенні всіх препаратів достовірно до контрольної патології знижувався рівень МДА, тим часом лише альтан та елагова кислота впливали ще й на початкові ланки ПОЛ, достовірно знижуючи концентрацію ДК (табл. 3). Одночасно з гальмуванням реакцій ПОЛ як біофлавоноїдні препарати, так і препарати дубильних речовин достовірно до контрольної патології виявили глутатіонзберігаючий ефект (табл. 3), що може зумовлюватися, за даними літератури, синергічними взаємовідносинами в ланцюжку “токоферолі-глутатіон-фенольні сполуки” [1]. Нормалізація ліпідного обміну під дією досліджуваних препаратів впливала на результати хімічного складу жовчі. Незважаючи на дещо підвищений, порівняно з інтактним конт-

ролем, вміст жовчних кислот та холестерину в групах тварин, лікованих альтаном і силібором, значення холато-холестеринового коефіцієнта не змінювалось відносно інтактного. Це свідчить про підтримку препаратами певного стаціонарного рівня перетворення холестерину на жовчні кислоти, що може пояснюватися захистом гідроксилуючої спроможності мікросомальних ферментів на тлі гальмування ПОЛ. Поряд із цим, під впливом кверцетину та елагової кислоти достовірно змінювалось співвідношення холати/холестерин, що може свідчити про певну активацію процесу гідроксилування і зумовлювати гіпохолестеринемічний ефект зазначених препаратів. Таким чином, надходження до організму екзогенних антиоксидантів фенольної структури, зокрема препаратів дубильних речовин, чинить позитивну коригувальну дію на накопичення та обмін ліпідів, які зумовлюють формування атеросклеротичних перетворень та можуть спричинити формування холелітіазу.

**ВИСНОВКИ.** 1. Препарати дубильних речовин – альтан та елагова кислота – попереджають розвиток експериментальної гіперліпідемії в білих щурів, не поступаючись за ефективністю біофлавоноїдним препаратам – силібору та кверцетину.

2. Під впливом препаратів дубильних речовин зменшення вмісту як первинних, так і вторинних продуктів ліпопероксидації в щурів з експериментальною гіперліпідемією відбувається динамічніше, ніж під дією біофлавоноїдних препаратів.

3. Елагова кислота>кверцетин>силібор>альтан підтримують певний стаціонарний рівень перетворення холестерину на жовчні кислоти, що може зумовлюватися захистом гідроксилуючої спроможності мікросомальних ферментів на тлі гальмування ПОЛ.

4. Попереднє дослідження гіполіпідемічної активності препаратів дубильних речовин – альтану та елагової кислоти – визначило пер-

спективність їхнього подальшого вивчення як гіполіпідемічних та антисклеротичних препаратів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. – М.: Наука, 1984. – 358 с.

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

3. Горчакова Н.А., Малая Л.Т., Бобров В.А. и др. Методические рекомендации по изучению гиполіпідемічних і противоатеросклеротических средств. – К.: ФК МЗО України, 1996. – 28 с.

4. Ковалев В.Б., Ковган В.В., Колчина Е.Ю. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы) // Укр. мед. альман. – 1999. – 2, № 4. – С. 176-184.

5. Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Коган Е.М. Холестериноз. – Москва: Медицина, 1983. – 352 с.

6. Определение содержания желчных кислот и холестерина в желчи / В.П. Мирошниченко,

Л.Л. Громашевская, М.Г. Касаткина и др. // Лаб. дело. – 1978. – № 3. – С. 149-153.

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

8. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 42-68.

9. Титов В.Н. Липопротеины высокой плотности: структура, функция и диагностическое значение. // Клин. лаб. диагн. – 2000. – № 2. – С. 25-29.

10. Філенко Л.В. Вплив антиангінальних і гіполіпідемічних засобів на ліпіди крові та ліпопероксидацію у хворих на ішемічну хворобу серця: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Харків, 1997. – 23 с.

11. Duell P.B. Prevention of atherosclerosis with dietary antioxidants: fact or fiction? // J. Nutr. – 1996. – № 126 (Suppl. 4). – P. 1067-1071.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА ОСНОВЕ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

**Т.С. Сахарова**

НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

#### Резюме

Проведено експериментальне дослідження гіполіпідемічної активності рослинних антиоксидантів на основі дубильних речовин – альтану і елагової кислоти – в порівнянні з препаратами біофлавоноїдного складу – кверцетином і силібором. Показано, що препарати дубильних речовин запобігають розвитку експериментальної гіперліпідемії у білих щурів, не уступаючи за ефективністю біофлавоноїдним препаратам, надаючи гіпохолестеринемічний ефект в значно менших дозах, ніж кверцетин і силібор.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** дубильные вещества, биофлавоноиды, гиперлипидемия, гиполіпідемічний ефект, свободнорадикальне окислення, антиоксидантний захист.

## EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE HYPOLIPIDEMIC ACTIVITY OF NEW NATURAL ANTIOXIDANTS ON THE BASIS OF TANNINIC MATTERS

**T.S. Sakharova**

NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

#### Summary

The experimental research of the hypolipidemic activity of vegetative antioxidants on the basis of tanninic matters (altan and ellagic acid) was carried out in comparison with bioflavonoid's drugs – Quercetinum and Siliborum. It was shown, that the drugs of tanninic matters warn development of an experimental lipidemia at white rats, not conceding effects bioflavonoid's drugs and by smallest dosis.

**KEY WORDS:** tanninic matters, bioflavonoids, hyperlipidemia, hypolipidemic effect, free radical oxidation, antioxidative protection.

Отримано 23.07.2001 р.

Адреса для листування: Т.С. Сахарова, ЦНДЛ, Національна фармацевтична академія, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

УДК 616-008.931:577.151.087.5

## ПОКАЗНИКИ КЛІРЕНСУ АНТИПІРИНУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ У ВАГІТНИХ

А.І. Гоженко, Л.В. Якименко, С.І. Долوماتов, Т.Я. Москаленко, О.В. Амбросійчук  
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На підставі обстеження двох груп вагітних – жінок за умов фізіологічного перебігу вагітності ( $n=16$ ) і вагітних із хронічним пієлонефритом ( $n=12$ ) у третьому триместрі – встановлено, що швидкість кліренсу антипірину при хронічному пієлонефриті зростає. Виявлено, що динаміка антипірину в слині вагітних із хронічним пієлонефритом корелює з показниками функції нирок.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антипірин, вагітні, функція нирок, хронічний пієлонефрит.

**ВСТУП.** Дані літератури свідчать про те, що кліренс антипірину має закономірну динаміку залежно від терміну вагітності [6]. З іншого боку, кліренс антипірину цілком адекватно відображає активність монооксигеназних систем *in vivo* [4, 7]. Нирки є основним каналом виведення препарату і певна його частка, що екскретується нирками, виділяється в незміненому стані [4]. Встановлено, що патологічний стан нирок здатний призвести до суттєвих порушень кліренсу антипірину [4], зокрема за умов патологічного перебігу вагітності [3].

Метою даної роботи є зіставлення показників кліренсу антипірину в жінок за умов фізіологічного перебігу вагітності та у вагітних із хронічною патологією нирок.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.** Нами обстежено жінок за умов фізіологічного перебігу вагітності ( $n=16$ ) і вагітних із хронічним пієлонефритом ( $n=12$ ) у третьому триместрі. Верифікацію діагнозу хронічний пієлонефрит проводили на підставі анамнезу та результатів лабораторної діагностики. Встановлено, що у вагітних із хронічним пієлонефритом спостерігаються мікроальбумінурія, бактеріурія, а показники лейкоцитурії сягають значень 25 000 клітин в 1 мл сечі.

Динаміку кліренсу антипірину досліджували за даними вимірювання його концентрації в слині і сечі. Функціональний стан нирок досліджували при водно-сольовому навантаженні.

© А.І. Гоженко – д.м.н., проф., Л.В. Якименко, С.І. Долوماتов, Т.Я. Москаленко, О.В. Амбросійчук, 2001.

О 7 годині натще після збору зразків слини пацієнтки приймали разову дозу антипірину (10 мг на 1 кг маси тіла). Через годину, після спорожнення сечового міхура, випивали 0,25 % розчин хлориду натрію в об'ємі 0,5 % від маси тіла і впродовж 60 хвилин знаходились у сидячому положенні, після чого спорожняли сечовий міхур і збирали другу порцію слини. Наступні порції слини збирали з інтервалом в 1 годину протягом 3 годин. Разом із тим, за результатами дослідження сечі, яку отримували через 60 хвилин після прийняття розчину, вивчали реакцію нирок на навантаження 0,25 % розчином хлориду натрію.

Концентрацію антипірину в слині й сечі визначали фотометрично [1] на спектрофотометрі СФ-46 (Росія) за реакцією з нітритом натрію в кислому середовищі. Концентрацію білка в сечі – фотометричним методом на КФК-3 (Росія) за реакцією із сульфосаліциловою кислотою. Верифікацію мікроальбумінурії здійснювали з використанням тесту "Microalbuminuria" фірми "Roche" (ФРН). Дослідження сечового синдрому проводили за методикою Ничипоренка.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали з використанням коефіцієнта Стьюдента за загальноновизнаною методикою.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати вивчення функції нирок після водно-сольового навантаження, наведені в таблиці 1, демонструють, що величина діурезу не має статистично значущих міжгрупових відмінностей, проте в групі пацієнток із хронічним

піелонефритом ми спостерігаємо слабку тенденцію до збільшення об'єму сечі на тлі вираженого підвищення концентрації білка в сечі і зростання його екскреції. Екскреція неметаболізованого антипірину в групі жінок з хронічним захворюванням нирок також має тенденцію до зростання ( $t=1,8$ ). Аналіз вмісту антипірину в слині, результати якого наведено в таблиці 2, дозволяє говорити про більшу швидкість кліренсу даної сполуки в організмі вагітних, хворих на хронічний піелонефрит. В порціях слини, які було отримано через 3, 4 і 5 годин після прийняття препарату, відзначено статистично значуще зниження концентрації антипірину.

Таким чином, результати наших досліджень показують, що швидкість кліренсу антипірину за умов хронічного піелонефриту зростає. Спираючись на дані власних досліджень, ми припускаємо, що у вагітних із хронічними захворюваннями нирок водночас мають місце два фактори, які можуть призвести до цього. З одного боку, ми не виключаємо, що порушення показників водно-сольового обміну внаслідок хронічного ураження мозкової речовини нирок може спричинити підвищення ниркової екскреції антипірину. Оскільки препарат є досить надійним маркером водного балансу в організмі [2], а зниження концентрувальної здатності нирок є однією з універсальних ознак піелонефриту, тому збільшення екскреції осмотично вільної води можна розглядати як одну із причин, що призводить до більш інтенсивної екскреції водорозчинних речовин, зокрема антипірину. З іншого боку, хронічний

патологічний процес у нирках може суттєво впливати на стан адаптаційних механізмів, що реалізуються під час вагітності, оскільки показники водно-сольового обміну є досить надійними параметрами прогнозування перебігу вагітності [8]. Тому не варто виключати, що зростання напруженості адаптаційних механізмів вагітних на тлі хронічного піелонефриту є одним із факторів, що мають здатність стимулювати потужність монооксигеназних систем, які і забезпечують біотрансформацію антипірину [5, 6].

Підґрунтям для таких міркувань є дані наших досліджень. З одного боку, ми спостерігаємо тенденцію до підвищення об'єму діурезу в групі хворих на піелонефрит і суттєве зростання ниркової екскреції антипірину. Дійсно, кореляційний аналіз показує, що існує певна позитивна залежність між екскрецією антипірину, показниками екскреції креатиніну ( $r=0,58$ ) та об'ємом діурезу ( $r=0,89$ ). Проте зіставлення абсолютних показників ниркової екскреції неметаболізованого антипірину з кількістю препарату, що надходить до організму вагітних, і динамікою вмісту речовини в слині наводить на думку про наявність іншого механізму, який визначає більшу швидкість кліренсу антипірину в групі вагітних із піелонефритом. За даними літератури, велику роль у процесах біотрансформації й екскреції антипірину в ссавців відіграють монооксигеназні системи, що локалізовані, головним чином, у гепатоцитах і нефроцитах [7]. Тому ми можемо розглядати отримані результати як доказ наявності стимуляції біотрансформації анти-

Таблиця 1 – Показники функції нирок і ниркової екскреції антипірину в здорових вагітних і вагітних із хронічним піелонефритом за умов водно-сольового навантаження

Показники	Здорові вагітні (n=16)	Вагітні з хронічним піелонефритом (n=12)
Діурез, мл/год	85±15	100±18
Концентрація білка в сечі, мг/л	30±6	77±20, p<0,05
Екскреція білка, мг/год	2,2±0,4	5,4±1,7, p<0,05
Концентрація антипірину в сечі, мкг/мл	19,2±2,3	19,9±2,2
Екскреція антипірину, мг/год	1,39±0,15	2,21±0,51

Примітка. Тут і в наступній таблиці: n – кількість пацієнток у групі;  
p – показник достовірності міжгрупових відмінностей.

Таблиця 2 – Динаміка концентрації антипірину в слині здорових вагітних і вагітних із хронічним піелонефритом

Групи пацієнток	Через 2 год після прийняття антипірину	Через 3 год після прийняття антипірину	Через 4 год після прийняття антипірину	Через 5 год після прийняття антипірину
Здорові вагітні (n=16)	12,72±0,87	13,48±0,44	12,42±0,53	12,18±0,37
Вагітні з хронічним піелонефритом (n=12)	11,54±1,19	10,87±1,24 p<0,05	10,0±0,88 p<0,05	10,60±0,67 p<0,05

пірину. Отримані нами результати не дозволяють зробити висновок про органну локалізацію ферментних систем, які зазнають стимулювального впливу за умов хронічної патології нирок. Не виключено, що порушення системних показників водно-солевого обміну також призводять до системних ефектів з боку

основних органів, які містять монооксигеназні ферментні комплекси.

**ВИСНОВОК.** У вагітних із хронічним пієлонефритом у третьому триместрі, порівняно з жінками з фізіологічним перебігом вагітності, зростає швидкість кліренсу антипірину.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Биохимическая фотометрия. – М.: АН СССР, 1957. – С. 676-677.
2. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. – Барнаул: Алтайское книжное издательство, 1972. – 386 с.
3. Гоженко А.І., Москаленко Т.Я., Долوماتов С.І. та ін. Кліренс антипірину як показник ускладнення вагітності // Зб. наук. праць "Асоціація акушерів-гінекологів України". – К.: Фенікс, 2001. – С. 150-152.
4. Заводник Л.Б., Лукиенко П.И., Бушма М.И. Оценка монооксигеназной функции печени по кинетике антипирина и его метаболитов в жидких средах организма // Фармакол. и токсикол. – 1989. – **52**, № 3. – С. 95-101.
5. Лакин К.М., Крылов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. – М.: Медицина, 1981. – 344 с.
6. Новиков В.Д., Горбачев Е.М. Беременность и токсиканты. – Новосибирск: Наука, 1986. – 160 с.
7. Хазанов А.И. Функциональная диагностика болезней печени. – М.: Медицина, 1988. – 304 с.
8. Salas S.P., Rosso P. A longitudinal study of plasma volume and hormonal changes in women with pre-eclampsia // Hypertension. – 1995. – **25**, № 6. – P. 1363-1368.

## ПОКАЗАТЕЛИ КЛИРЕНСА АНТИПИРИНА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ПИЕЛОНЕФРИТА У БЕРЕМЕННЫХ

**А.И. Гоженко, Л.В. Якименко, С.И. Долوماتов, Т.Я. Москаленко, Е.В. Амбросийчук**  
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

На основании обследования двух групп беременных – женщин в условиях физиологического течения беременности ( $n=16$ ) и беременных с хроническим пиелонефритом ( $n=12$ ) в третьем триместре – установлено, что скорость клиренса антипирина при хроническом пиелонефрите возрастает. Обнаружено, что динамика антипирина в слюне беременных с хроническим пиелонефритом коррелирует с показателями функции почек.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антипирин, беременные, функция почек, хронический пиелонефрит.

## INDICES OF ANTIPYRINE CLEARANCE AT CHRONIC PYELONEPHRITIS CONDITIONS IN PREGNANTS

**A.I. Gozhenko, L.V. Yakimenko, S.I. Dolomatov, T.Y. Moskalenko, E.V. Ambrosiychuk**  
ODESA STATE MEDICAL UNIVERSITY

#### Summary

By the inspection results of two groups of pregnant: in conditions of physiological course of pregnancy ( $n=16$ ) and of pregnant with chronic pyelonephritis ( $n=12$ ) in third trimester it has been fixed, that the speed of antipyrine clearance in conditions of chronic pyelonephritis increases. The antipyrine dynamics in the saliva of pregnant with chronic pyelonephritis has been shown to correlate with renal function indices.

KEY WORDS: antipyrine, pregnant, renal function, chronic pyelonephritis.

Отримано 25.10.2001

Адреса для листування: А.І. Гоженко, кафедра загальної та клінічної патфізіології, Одеський державний медичний університет, пров. Валіховський, 2, Одеса, 65026, Україна.

## ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ В ЖІНОК ІЗ ПОСТКАСТРАЦІЙНИМ СИНДРОМОМ

С.О. Галникіна, Л.А. Белінська

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Проведено обстеження 95 жінок клімактеричного віку: 35 – з фізіологічним перебігом менопаузи, 24 – з посткастраційним синдромом, які не мали патологічних проявів з боку шкіри і слизових оболонок, та 36 – з посткастраційним синдромом та із змінами в шкірі і слизових оболонках. Визначали показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидної системи (АОС). Результати проведеного обстеження дозволили виявити порушення рівноваги ПОЛ/АОС, особливо в жінок після оваріоектомії з патологією шкіри і слизових оболонок.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** посткастраційний синдром, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидна система.

ВСТУП. Із настанням клімактеричного періоду в жіночому організмі відбуваються значні зміни. Яєчниками виробляється все менше і менше жіночих статевих гормонів, які довгі роки регулювали обмінні процеси в організмі жінки.

При нестачі власних статевих гормонів у більшості жінок виникають фізичні й психічні розлади, проходять зміни в діяльності всіх органів і систем. Особливо швидко це відбувається після хірургічного видалення яєчників, тоді розвивається синдром хірургічної менопаузи [9].

Одним з основних симптомів патологічного клімаксу є “припливи” жару до обличчя, який спостерігається приблизно у 80 % хворих. Жінок турбують також зміни артеріального тиску, головний біль, серцебиття, дратівливість, зміни настрою та інші прояви посткастраційного синдрому. Тобто страждають ті органи і тканини, які мають специфічні естрогенні рецептори.

Сюди ж відносять і зміни в шкірі та її придатках, які виникають внаслідок гормональних змін, спричинених хірургічним видаленням яєчників. Це сухість і ламкість нігтів, випадання волосся, поява зморщок.

Атрофічні зміни уrogenітальної системи, викликані зниженням рівня естрогенів, є однією з основних причин зростання частоти неспецифічних вагінітів у менопаузальний період.

© С.О. Галникіна – к.м.н., Л.А. Белінська, 2001.

Сухість вагіни, свербіж, печіння, статеві розлади, що нерідко турбують жінок у цей період, значно погіршують якість їх життя після операції.

На сьогодні є багато робіт, які вивчають фізіологічні та клініко-біохімічні аспекти патогенезу посткастраційного синдрому (ПКС), що свідчить про велике медико-соціальне значення цієї проблеми [5, 7].

Відомо про існування численних центральних та периферичних патогенетичних факторів, які беруть участь у формуванні ПКС [3]. Але відсутність відомостей про активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), стан антиоксидної системи (АОС) у хворих із патологічним перебігом менопаузи, особливо після хірургічної оваріоектомії, не дозволяє повністю зрозуміти біохімічні механізми розвитку даного захворювання [1, 2].

Метою нашої роботи було вивчити стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидної системи захисту у жінок після хірургічного видалення яєчників

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 62 жінки, які перенесли оваріоектомію. Серед них 24 жінки (39 %) без захворювань шкіри (II група) і 36 жінок (61 %) з патологією шкіри та слизової оболонки вагіни (андрогенна алопеція, рожеві вугри, клімактерична екзема, ксероз шкіри та слизових оболонок, кольпіт) (III група). Отримані дані про стан ПОЛ та АОС

порівнювали з даними 35 здорових жінок (I група) того ж віку, обстежених у цій же лабораторії.

Про стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидної системи судили на підставі визначення рівня дієнових кон'югатів (ДК), гідроперекисів ліпідів (ГП), малонового діальдегіду (МДА) [8]. Пероксидазну активність (ПА) еритроцитів визначали за методикою [6]; активність супероксиддисмутази (СОД) – за методикою [4].

Кров для дослідження брали натще з кубітальної вени.

Обрахунки і статистичну обробку результатів виконано за допомогою програмного пакета Microsoft Excel 7,0 для Windows 95.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** При аналізі проведених досліджень виявлено, що в жінок із посткастраційним синдромом без шкірної патології показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидного захисту відрізнялися від таких у здорових жінок того ж віку. Так, у цей період у жінок після операції рівень СОД зменшився на 14,46 %, порівняно з контрольним значенням, а у жінок з патологією шкіри і слизових оболонок – на 13,81 %, порівняно з пацієнтками другої групи ( $p < 0,05$  в обох випадках). Знижувалась також пероксидазна активність еритроцитів. У жінок після оваріоектомії цей показник зменшився на 4,84 %, стосовно жінок із фізіологічним перебігом менопаузи ( $p < 0,05$ ), а в пацієток із шкірною патологією – на 4,55 %, порівняно з другою групою ( $p < 0,05$ ).

Пригнічення активності АОС у прооперованих жінок II групи супроводжувалось накопиченням як первинних (ДК, ГП), так і вторинних (МДА) продуктів ПОЛ, показники яких були вищими, ніж у контрольній групі (табл. 1). А в жінок після оваріоектомії з вираженою патологією шкірних покривів і слизових оболонок ці показники зростали ще у більшому ступені.

Якщо рівні дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду зросли незначно після оваріоектомії ( $p > 0,05$ ), то показники гідроперекисів ліпідів у жінок II групи збільшились на 8,7 %, порівняно з такими у контрольній групі ( $p < 0,05$ ).

Істотно підвищилась кількість гідроперекисів ліпідів у прооперованих жінок з вираженою патологією шкіри та слизових оболонок, стосовно пацієток другої групи. Цей показник зріс на 6,9 % ( $p < 0,05$ ). Достовірної різниці показників дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в цієї групи жінок не спостерігалось ( $p > 0,05$ ), порівняно з пацієнтками без шкірної патології.

**ВИСНОВКИ.** 1. У жінок із посткастраційним синдромом, для яких характерні зміни з боку шкіри та слизових оболонок, більшою мірою підвищується рівень первинних та вторинних продуктів ПОЛ, порівняно з жінками без шкірної патології.

2. Отримані дані дозволяють рекомендувати призначення раціональної терапії таким жінкам з включенням до комплексу лікувальних заходів антиоксидантів.

Таблиця 1 – Показники ПОЛ та АОС у жінок із посткастраційним синдромом

Показники	Здорові жінки, n=35 (I група)	Жінки після оваріоектомії, n=24 (II група)	Жінки після оваріоектомії з патологією шкіри та слизових оболонок, n=36 (III група)
Дієнові кон'югати, ммоль/л	16,485±1,904	18,749±2,108	19,405±2,488
Гідроперекиси ліпідів, ум.од.	0,161±0,007	0,175±0,004*	0,184±0,002**
Малоновий діальдегід, ммоль/л	0,029±0,003	0,032±0,002	0,033±0,003
Супероксиддисмутаза, ум. од.	14,435±0,438	12,348±0,395*	10,643±0,295**
Пероксидазна активність, М1/1000	99,455±2,341	94,645±1,545*	90,342±1,321**

Примітка. \* – зміни достовірні, порівняно з першою групою жінок ( $p < 0,05$ );

\*\* – зміни достовірні, порівняно з другою групою жінок ( $p < 0,05$ ).

#### ЛІТЕРАТУРА.

1. Владимиров В.А., Арчаков А.И. ПОЛ в биологических мембранах. – М.: Медицина, 1973. – 154 с.
2. Гончаренко М.С., Литвинова В.Н. Метод оценки ПОЛ // Лаб. дело. – 1985. – № 1. – С. 60-61.
3. Дильман В.М. Старение, климакс и рак. – Л.: Медицина, 1968. – 157 с.
4. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Определение активности супероксиддисмутазы в плазме, гомогенатах и эритроцитах // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-31.
5. Крымская М.Л. Климатерический период. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.



6. Попов Г., Нейковская Л. Метод определения пероксидазной активности эритроцитов // Гиг. и сан. – 1971. – № 10-11. – С. 89-91.

7. Сметник В.П., Ткаченко Н.М., Глейзер Г.А. Климактерический синдром. – М.: Медицина, 1988. – 285 с.

8. Современные методы в биохимии / Под ред. В.М. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 280 с.

9. Татарчук Т.Ф., Нетрусова С.Г. Вплив замісної гормональної терапії на психопатологічні прояви патологічного клімаксу у жінок // ПАГ. – 2001. – № 3. – С. 102-108.

## ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДНОЙ ЗАЩИТЫ У ЖЕНЩИН С ПОСТКАСТРАЦИОННЫМ СИНДРОМОМ

**С.А. Галныкина, Л.А. Белинская**

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

Проведено обследование 95 женщин в климактерическом возрасте: 35 – с физиологическим течением менопаузы, 24 – с посткастрационным синдромом, которые не имели патологических проявлений со стороны кожи и слизистых оболочек, и 35 – с посткастрационным синдромом и с изменениями кожи и слизистых оболочек. Определяли показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы. Результаты проведенного исследования позволили выявить нарушение равновесия ПОЛ/АОС, особенно у женщин после овариэктомии с патологией кожи и слизистых оболочек.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **посткастрационный синдром, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.**

## PECULIARITIES OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM INDICES IN WOMEN WITH POSTCASTRATION SYNDROME

**S.O. Galnykina, L.A. Belinska**

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.Ya. HORBACHEVSKY

### Summary

94 women of menopause age were investigated: 35 women with physiological menopause course, 24 women with postcastration syndrome and 35 – with skin and mucous changes. The indices of lipid peroxidation and antioxidant system were determined. The data of our research allowed to reveal the disorders in the above-mentioned systems, particularly in women after ovariectomy and pathology of skin and mucous.

KEY WORDS: **postcastration syndrome, lipid peroxidation, antioxidant system.**

Отримано 08.10.2001 р.

Адреса для листування: С.О. Галныкіна, курс дерматовенерології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся до  
нашої сторінки в Інтернеті:  
<http://www.tdma.ssft.ternopil.ua/journals>**

## КОРЕКЦІЯ ДИХАЛЬНИХ РОЗЛАДІВ У ПОТЕРПІЛИХ З ТРАВМАТИЧНИМИ ПОШКОДЖЕННЯМИ ЛЕГЕНЬ ЕКЗОГЕННИМ СУРФАКТАНТОМ

**І.І. Мітюк, А. Мурад, В.Ф. Кривецький, М.І. Покидько, М.А. Полянчук, Н.О. Швецова**  
**ВІННИЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА**

*При лікуванні 41 потерпілого з важкими пошкодженнями легень внаслідок закритої чи відкритої травми грудної клітки застосовано терапію за допомогою екзогенного сурфактанта. У результаті істотно покращилась респіраторна функція. Інфекційних ускладнень з боку легень, а також летальних випадків, у цій групі не спостерігалось.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **травми грудної клітки, екзогенний сурфактант.**

**ВСТУП.** В структурі ушкоджень різних частин тіла при травмі ураження грудей перевищують 10 % і займають третє місце після пошкоджень кінцівок і голови. Останні роки характеризуються подальшим збільшенням їх частоти через невпинне зростання транспортного, кримінального і виробничого травматизму, особливо серед соціально активного, працездатного контингенту [2].

Майже в половини потерпілих, які стаціонарно лікуються з приводу травми грудної клітки (ТГК), відмічається ураження легень. Разом із тим, дотепер недостатню увагу приділяють вивченню механізмів розвитку респіраторного дисбалансу при ТГК, зокрема порушенням сурфактантної системи легень у названого контингенту потерпілих, а також методам їх корекції з використанням замісної сурфактантної терапії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** З 1995 по 2001 роки на стаціонарному лікуванні в клініці госпітальної хірургії Вінницького ДМУ на базі торакального відділення ОКЛ ім. М.І. Пирогова перебувало 1683 потерпілих із закритими і 392 – з відкритими ТГК та їх наслідками. У 804 (38,7 %) з них було виявлено ознаки пошкодження легені (пневмоторакс, гемоторакс, повітряну емфізему клітковинних просторів грудної стінки й середостіння, кровохаркання, ранню інфільтрацію в паренхімі при рентгенодослідженні) у різних поєднаннях. Окрім того, 97 потерпілих госпіталізували з посттравматичними інфекційними ускладненнями з боку легень і плеври, виникнення яких, як

© І.І. Мітюк – д.м.н., проф., А. Мурад, В.Ф. Кривецький, М.І. Покидько – к.м.н., М.А. Полянчук, Н.О. Швецова, 2001.

відомо, тією чи іншою мірою пов'язане з умовами вентиляції легеневої паренхіми.

З метою виявлення у потерпілих з ТГК виражених респіраторних порушень та їх корекції дією на систему легеневого сурфактанта нами обстежено 25 хворих із закритими та 16 – із відкритими пошкодженнями грудей (серед останніх 4 – вогнепального походження). Їм, поруч із традиційним переліком необхідних ургентних досліджень (рентгенографія, лабораторний мінімум), неінвазивним методом за допомогою апарата “Пульсоксиметр” визначали насиченість периферійної крові киснем (SaO<sub>2</sub>).

При виявленні відхилень проводили замісну сурфактантну терапію препаратом “Сукрим”. Він є екзогенним сурфактантом, який виробляють у промисловій лабораторії Кримського медичного університету, і дозволений для клінічного використання [4]. Препарат у дозі 50 мг вводився ендобронхіально через мікроіригатор, введений у трахею при мікродрагеоцентезі. Ефективність визначали за динамікою клінічного перебігу захворювання: загальний стан хворого, фізикальне обстеження дихальної системи, показники лейкоцитарної формули, лейкоцитарний індекс інтоксикації, рентгенологічні зміни, а також зміни SaO<sub>2</sub> при пульсоксиметрії порівняно з початковим рівнем.

У цій групі пацієнтів у 21 випадку проводили ургентні хірургічні втручання (зупинку внутрішньоплевральної кровотечі, ліквідацію гемотораксу – 21, ушивання дефектів легені – 12, резекція легені – 7, ушивання дефекту в діафрагмі – 5), решта потерпілих лікувалась консервативно з використанням традиційних

підходів, прийнятих у спеціалізованому стаціонарі, з включенням у схему комплексного лікування екзогенного сурфактанта, який вводили ендобронхіально через бронхоскоп або мікротрахеоцентез.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Прижиттєве вивчення сурфактантної системи легень у гострий період ТГК утруднене. Зокрема, використання у клінічних умовах традиційних методів (збір конденсату видихуваного повітря, вимірювання поверхневого натягу) стосовно найважчого контингенту часто не можливе через необхідність невідкладного хірургічного втручання чи тяжкість стану потерпілих. У таких умовах істотну цінність становить непряме дослідження ефективності використання замісної сурфактантної терапії за динамікою маркерів респіраторної функції.

У ході проведених досліджень виявлено істотні порушення респіраторної функції, що проявлялись зниженням  $\text{SaO}_2$  на 10-35 % залежно від характеру ушкоджень. Найбільші відхилення спостерігались при вогнепальних пораненнях грудної клітки ((66,2±3,9) %). Це логічно впливає з патогенезу названих ушкоджень, оскільки в таких випадках має місце масивний забій легень з утворенням внутрішньоальвеолярних та ендобронхіальних крововиливів, обширних зон гіповентиляції, ателектазів і некротичних ділянок [3].

Так само значні порушення зауважувались при закритих торакоабдомінальних травмах ((68,7±4,4) %), а також закритих ТГК із множинними пошкодженнями ребер і забоєм чи розривом легені ((78,6±2,9) %). У таких випадках, поряд з істотним зниженням кількості функціонуючої легеневої паренхіми, респіраторні розлади поглиблювались також порушенням біомеханіки дихання внаслідок пошкодження реберно-м'язового каркаса та діафрагми.

Потрібно відмітити, що для вказаних різновидів ТГК, паралельно із крововиливами в дихальні шляхи і легеневу паренхіму, характерна інтраальвеолярна та інтрабронхіальна транслокація рідкої частини плазми з наступним порушенням встановленої рівноваги на межі фаз "рідина-повітря" надальвеолярного моношару [1]. Очевидно, саме у цього контингенту потерпілих найчастіше виникають показання до замісної сурфактантної терапії. Разом із тим, оскільки колото-різані рани легень супроводжуються ушкодженнями паренхіми здебільшого в проекції ранового каналу без залучення сусідніх масивів паренхіми, вони викликають значно менші відхилення значень показника насиченості периферійної крові киснем.

Після ендобронхіального введення препарату "Сукрим" відбувалось підвищення  $\text{SaO}_2$ , відповідно, до (94,0±4,3) % у потерпілих з вогнепальними пораненнями, до (90,8±3,8) % – при грудочеревних ушкодженнях та до (92,5±2,8) % – при ізольованих закритих ТГК (табл. 1). Важливо зауважити, що динаміка відновлення респіраторних порушень була значно повільнішою у хворих з масивними пошкодженнями структурних елементів реалізації дихальних рухів. Це підтверджує абсолютну необхідність своєчасного та ефективного проведення заходів щодо їх корекції (відновлення каркасності грудної стінки, пластика ушкодженої діафрагми тощо).

При виписуванні із стаціонару в обстежених хворих значення показника перебувало в межах (96,4±3,1) %.

За даними рентгенологічного дослідження в усіх випадках у динаміці спостерігалось прискорене розсмоктування зон гіповентиляції у легеневій паренхімі. У жодного з потерпілих не відмічалось появи гнійних ускладнень з боку легень та плеври. Летальних наслідків у даній групі не було.

Таблиця 1 – Значення  $\text{SaO}_2$  у потерпілих з ускладненою травмою грудей під впливом замісної терапії екзогенним сурфактантом

Одобреного об'єкта	Вік	$\text{SaO}_2$	
		до лікування	після лікування
Члени сім'ї, які перебувають у стані коми	20	78,6±2,9	92,5±2,8
Члени сім'ї, які перебувають у стані коми	5	68,7±4,4	90,8±3,8
Інші особи, які перебувають у стані коми	12	89,9±2,2	96,3±2,6
Всього	4	66,2±3,9	94,0±14,3

Примітка. Нормальні показники насичення периферійної крові киснем – 96-98 %.

ВИСНОВОК. Для усунення дихальних розладів при травматичних ушкодженнях легень доцільно використовувати екзогенний сурфактант. Особливу цінність він становить у

разі масивних ушкоджень легеневої паренхіми, які трапляються переважно при закритій торакальній і торакоабдомінальній травмі, а також вогнепальних пораненнях.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Биркун А.А., Нестеров Е.Н., Кобозев Г.В. Сурфактант легких. – К.: Здоров'я, 1981. – 160 с.
2. Вагнер Е.А. Хирургия поврежденных груди. – М.: Медицина, 1981. – 28 с.
3. Нечаев Э.А., Бисенков Л.Н. Торакоабдоминальные ранения. – С.-Пб.: Logos., 1995. – 160 с.
4. Zagorulko A.K., Potapov A., Babanin A., Novikov V. Surfactant replacement therapy in acute pulmonary damage in adults // Appl. Cardiopulm. Pathophysiol. – 9, № 3. – 2000. – P. 316-319.

## КОРРЕКЦИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ У ПОТЕРПЕВШИХ С ТРАВМАТИЧЕСКИМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ ЛЕГКИХ ЭКЗОГЕННЫМ СУРФАКТАНТОМ

**И.И. Митюк, А. Мурад, В.Ф. Кривецкий, М.И. Покидько, М.А. Полянчук, Н.О. Швецова**  
ВИННИЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

#### Резюме

*При лечении 41 потерпевшего с тяжелыми повреждениями легких вследствие закрытой или открытой травмы грудной клетки было применено терапию с помощью экзогенного сурфактанта. В результате существенно улучшилась респираторная функция. Инфекционных осложнений со стороны легких, а также летальных случаев, в той группе не наблюдалось.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **травмы грудной клетки, экзогенный сурфактант.**

## CORRECTION OF RESPIRATORY DISTURBANCES IN PATIENTS WITH TRAUMATIC DAMAGES OF THE LUNGS BY EXOGENIC SURFACTANT

**I.I. Mitiuk, A. Murad, V.F. Kryvetsky, M.I. Pokydko, M.A. Polianchuk, N.O. Shvetsova**  
VINNYTSIA STATE MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

#### Summary

*At the treatment of 41 patients with severe lung injuries due to blunt or acute thoracic trauma the therapy with exogenic surfactant was used. In all cases the significant improvement of respiratory function was noted. There were not lung infection complications and lethal cases in this group.*

KEY WORDS: **thoracic traumas, exogenic surfactant.**

Отримано 5.10.2001 р.

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

## КОРЕКЦІЯ ФЛУРЕНІЗИДОМ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ЖІНОК З ФАКТОРАМИ ІНФЕКЦІЙНОГО РИЗИКУ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ КЕСАРЕВОГО РОЗТИНУ

Т.В. Кравець, І.В. Корда

РІВНЕНСЬКИЙ ОБЛАСНИЙ КЛІНІЧНИЙ ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНИЙ ЦЕНТР  
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Показано, що у жінок з факторами ризику виникнення інфекційних ускладнень, які тривалий час проживають у зоні радіаційного забруднення, після операції кесаревого розтину відбуваються активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і пригнічення функціонального стану антиоксидної системи (АОС). Профілактичне застосування флуренізиду частково запобігало порушенню балансу ПОЛ/АОС у післяопераційний період.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кесарів розтин, гнійно-запальні ускладнення, перекисне окиснення ліпідів, система антиоксидного захисту, флуренізид.

ВСТУП. Вивчення впливу тривалої дії малих доз іонізуючої радіації на організм людини, особливо такого вразливого контингенту, як вагітні жінки, має важливе медичне та соціальне значення. Відомо, що радіаційне опромінення знижує імунологічну реактивність організму, що є вагомою причиною виникнення гнійно-запальних ускладнень у породілей. Однією з ключових ланок патогенезу таких ускладнень є порушення нормального перебігу окиснювальних процесів у післяпологовий період [1].

Метою нашої роботи було дослідити інтенсивність процесів ліпопероксидації й активність антиоксидного ферменту супероксиддисмутази (СОД) у жінок, які проживають на радіаційно забруднених територіях, після операції кесаревого розтину.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 102 породіллі після операції кесаревого розтину. Всі вони були поділені на 3 групи. I (контрольна) – 24 жінки після операції кесаревого розтину, які не мали факторів ризику виникнення інфекційних ускладнень і проживали на радіаційно незабруднених територіях. II група – 40 жінок з факторами інфекційного ризику, розроджених операцією кесаревого розтину, які проживали на радіаційно забрудненій території. Вони отримували загальноприйняту профілактику гнійно-запальних ускладнень (антибіотики, сульфаніламід, десенсибілізуювальні препарати, середники, що скорочують матку). 38 жінок III групи, розроджених кесаревим розтином, також мали фактори ризику виникнення інфекційних ускладнень і прожи-

© Т.В. Кравець, І.В. Корда – к.м.н., 2001.

вали на радіаційно забрудненій території. Проте породіллі цієї групи, окрім традиційної терапії, починаючи з часу відновлення адекватної перистальтики кишечника, отримували флуренізид (по 0,5 г 3 рази на день протягом 6 діб).

Жінок обстежували на 9-10 добу після операційного періоду.

Про інтенсивність процесів ліпопероксидації судили за вмістом у плазмі крові породілей дієнових кон'югатів (ДК), гідроперекисів ліпідів (ГП) та малонового діальдегіду (МДА) [3]. Для оцінки функціонального стану ферментативної ланки антиоксидної системи визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [4].

Обробку отриманих результатів проводили статистичним методом з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Оперативне втручання викликає суттєве збільшення інтенсивності ліпопероксидних процесів у плазмі крові жінок (табл. 1). Так, навіть у породілей контрольної групи, які не мали факторів ризику виникнення інфекційних ускладнень і проживали на радіаційно незабруднених територіях, на 9-10 добу після операції кесаревого розтину вміст у плазмі крові дієнових кон'югатів був більшим в 1,5 раза, порівняно з доопераційним рівнем, а концентрація гідроперекисів ліпідів і малонового діальдегіду – в 1,4 та 1,6 раза відповідно (у всіх випадках  $p < 0,05$ ).

Ще більшою мірою оперативне втручання активувало вільнорадикальні процеси у жінок, які мали фактори ризику виникнення гнійно-запальних ускладнень після операції кеса-

Таблиця 1 – Показники інтенсивності ПОЛ у плазмі крові жінок до і на 9-10 добу після операції кесаревого розтину

Групи жінок	Термін дослідження	Показник		
		ДК, мкмоль/л	ГП, ум.од.	МДА, мкмоль/л
I	До операції	0,062±0,003	0,145±0,006	0,027±0,002
	Після операції	0,095±0,002 <sup>#</sup>	0,214±0,002 <sup>#</sup>	0,044±0,003 <sup>#</sup>
II	До операції	0,070±0,004	0,168±0,008	0,040±0,004
	Після операції	0,128±0,006 <sup>**</sup>	0,311±0,008 <sup>**</sup>	0,076±0,003 <sup>**</sup>
III	До операції	0,072±0,003	0,165±0,007	0,043±0,009
	Після операції	0,114±0,002 <sup>**</sup>	0,293±0,010 <sup>#</sup>	0,056±0,002 <sup>**</sup>

Примітка. <sup>#</sup> – зміни достовірні, порівняно з показниками до операції відповідної групи жінок; \* – зміни достовірні, порівняно з показниками після операції I групи жінок (p<0,05); \*\* – зміни достовірні, порівняно з показниками після операції II групи жінок (p<0,05).

ревого розтину. В породілей II групи вміст дієнових кон'югатів на 9-10 день після операції становив 180, гідроперекисів – 185 і малонового діальдегіду – 190 % відносно доопераційного рівня.

Таке зростання концентрації продуктів вільнорадикального окиснення у крові жінок у післяопераційний період, особливо у породілей підвищеної групи ризику виникнення гнійно-запальних захворювань, свідчить, що в крові цих жінок знижується вміст ендогенних антиоксидантів і/або збільшується рівень вільних радикалів та субстратів, які є легкодоступною мішенню для агресивної дії даних радикалів (неетерифікованих жирних кислот).

Звертає на себе увагу той факт, що в післяопераційний період всі досліджувані показники інтенсивності ПОЛ у плазмі крові жінок II групи були статистично достовірно вищими, порівняно з такими у породілей, які не мали факторів ризику виникнення гнійно-запальних ускладнень (табл. 1).

Профілактичне застосування жінкам з факторами ризику флуореніду протягом шести днів після операції призвело до часткової нормалізації активованих окиснювальних процесів. У породілей III групи зафіксовано статистично значуще зменшення вмісту дієнових кон'югатів (на 11 %) і малонового діальдегіду (на 27 %), порівняно з відповідними показниками у жінок групи ризику, яким проводили традиційну терапію.

Інтенсивність процесів ліпопероксидації в організмі значною мірою визначається спроможністю системи антиоксидного захисту. Результати наших досліджень показали, що ще до операції кесаревого розтину в плазмі крові жінок з факторами ризику виникнення гнійно-запальних ускладнень була пригніченою активність супероксиддисмутази (рис. 1). Операція кесаревого розтину негативно позначилася на функціонуванні даного ферменту. Навіть у породілей, які не мали передумов до виникнення інфекційних ускладнень, його активність у післяопераційний період знизилася на 20 %, а у жінок з такими факторами – на 76 (II група) і 31 (III група) %.

Необхідно відмітити, що жінки з факторами інфекційного ризику, які в комплексній терапії отримували флуореніду, мали достовірно (на 23 %) вищі показники активності супероксиддисмутази плазми крові, порівняно з II групою породілей.

Отже, профілактичне призначення після операції кесаревого розтину флуореніду жінкам, які мають фактори ризику виникнення гнійно-запальних ускладнень, сприяє частковій нормалізації порушеного дисбалансу між активністю окиснювальних процесів і функціонуванням системи антиоксидного захисту. Цей феномен, очевидно, зумовлений антимікробними властивостями флуореніду, які призводять до зменшення частоти і тяжкості запальних явищ у післяопераційний період і, як наслідок, до зменшення інтоксикації організму і нормалізації перебігу окиснювальних реакцій. Проте не виключено, що флуореніду безпосередньо здатний гальмувати реакції ліпопероксидації. Таке припущення ґрунтується на хімічній структурі препарату, в якій наявна оксигрупа, що містить рухомий атом водню, а

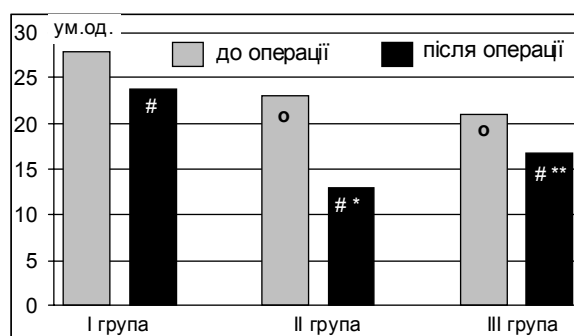


Рис. 1. Активність супероксиддисмутази плазми крові жінок до і на 9-10 добу після операції кесаревого розтину.

Примітка. <sup>°</sup> – зміни достовірні, порівняно з показниками до операції I групи жінок; <sup>#</sup> – зміни достовірні, порівняно з показниками до операції відповідної групи жінок; \* – зміни достовірні, порівняно з показниками після операції I групи жінок (p<0,05); \*\* – зміни достовірні, порівняно з показниками після операції II групи жінок (p<0,05).

також на результатах наших попередніх досліджень, де було показано антирадикальний ефект флуренізиду [2].

**ВИСНОВКИ.** 1. У вагітних, які мають фактори ризику виникнення гнійно-запальних ускладнень і проживають на радіаційно забруднених територіях, після операції кесаревого розтину спостерігається різкий дисбаланс між активністю

вільнорадикальних реакцій і функціонуванням системи антиоксидного захисту плазми крові.

2. Профілактичне застосування флуренізиду протягом шести днів після операції кесаревого розтину в жінок з факторами ризику виникнення інфекційних ускладнень призводить до часткової нормалізації показників інтенсивності окиснювальних процесів і функціонального стану антиоксидної системи.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Корда І.В. Превентивна терапія гнійно-септичних ускладнень у породіль з факторами ризику після операції кесарського розтину: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Вінниця, 2001. – 18 с.

2. Корда М.М., Петрух Л.І., Корда І.В. і ін. Антирадикальна й антиоксидна активність N-(9-флуореніліден)-N'-ізонікотиногідрозиду (флуре-

нізиду) // Мед. хім. – 2000. – 2, № 2. – С. 15-18.

3. Современные методы в биохимии / Под ред. В.М. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 280 с.

4. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах и метод определения ее в биологическом материале // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681

## КОРРЕКЦИЯ ФЛУРЕНИЗИДОМ НАРУШЕНИЙ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ЖЕНЩИН С ФАКТОРАМИ ИНФЕКЦИОННОГО РИСКА ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ

**Т.В. Кравец, И.В. Корда**

*РОВЕНСКИЙ ОБЛАСТНОЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР  
ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО*

#### Резюме

*Показано, что у женщин с факторами риска возникновения инфекционных осложнений, которые длительное время проживают в зоне радиационного загрязнения, после операции кесарева сечения имеют место активация процессов перекисного окисления липидов и угнетение функционального состояния антиоксидной системы. Профилактическое применение флуренизида частично предупреждает нарушение баланса ПОЛ/АОС в послеоперационный период.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** кесарево сечение, гнойно-воспалительные осложнения, перекисное окисление липидов, система антиоксидной защиты, флуренизид.

## CORRECTION OF THE DISTURBANCES OF OXIDATIVE PROCESSES IN WOMEN WITH RISK FACTORS OF INFECTIOUS DISEASES AFTER THE CAESARIAN SECTION OPERATION BY FLURENIZID

**T.V. Kravets, I.V. Korda**

*RIVNE REGIONAL CLINICAL THERAPEUTIC-DIAGNOSTIC CENTER  
TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY*

#### Summary

*Activation of lipid peroxidation (LP) processes and depression of antioxidant system (AOS) functional status have been shown to occur in females living in the zone of radiation contamination for a long time and having the risk factors of infectious diseases after the caesarian section operation. Prophylactic application of flurenizid partly prevented disbalance LP/AOS during the postoperative period.*

**KEY WORDS:** caesarean section, infectious complications, lipid peroxidation, antioxidant system, flurenizid.

Отримано 10.09.2001 р.

**Адреса для листування:** І.В. Корда, кафедра акушерства і гінекології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

## СЛАБКІ ЕЛЕКТРОМАГНІТНІ ПОЛЯ Й АДАПТАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ: ФАКТИ І ТЕОРІЇ

**Д.В. Камінський, А.П. Черкас, О.П. Єлісеєва, А.К. Куркевич, Я.І. Алексевич**  
Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького

*У роботі зроблено спробу узагальнення численних даних про параметри та ефекти слабких низькочастотних електромагнітних полів і механізми їх взаємодії з біосистемою. Основну увагу зосереджено на питаннях впливу на енергетичний обмін, кисеньзалежні процеси, адаптаційні реакції. Аналіз проведено крізь призму найновіших уявлень про адаптаційні процеси, інформаційну взаємодію, роль вільнорадикальних реакцій та ширші можливості практичного застосування в медицині.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** електромагнітні поля, механізми взаємодії, вільні радикали, адаптаційні процеси.

З часу відкриття електромагнітних полів (ЕМП) у середині XIX ст. бурхливість та інтенсивність розвитку знань і технологій, пов'язаних з електромагнітним випромінюванням, не мають аналогів. В усіх сферах діяльності людини ЕМП знаходять усе ширше застосування. Не є винятком біологічна і медична галузі. Яскравим підтвердженням цього є широке використання магнітотерапії, електротерапії, активні спроби з'ясувати природу і механізми взаємодії ЕМП з організмом. Кількість праць на цю тематику постійно зростає. До середини 60-х років активно впроваджувалась думка про шкідливість ЕМП. Але вже із середини 70-х років усе більше праць присвячено позитивному впливу ЕМП.

Аналізуючи впливи ЕМП, слід розуміти, що мається на увазі певний вид електромагнітних випромінювань і частина його спектра. Визначимо ті параметри, які дають можливість провести певну класифікацію ЕМП і є відповідальними за первинні біологічно значущі фізико-хімічні дії поля, що зумовлюють характер впливу. До таких параметрів належать:

1) *електрична чи магнітна складова*. Поле може бути магнітним, електричним або електромагнітним;

2) *величина поля*, яка характеризується інтенсивністю і напруженістю та показує енергетичне навантаження поля, що може відрізнятися в мільйони разів;

3) *частота*. Наприклад, радіочастотні, міліметрові, дециметрові поля за цією харак-

теристикою займають величезний діапазон – від десятих Гц до ГГц ( $10^9$ );

4) *векторна характеристика поля*, тобто спрямованість силових ліній поля відносно об'єкта і силових ліній магнітного поля Землі;

5) *градієнт і форма імпульсу* для імпульсного поля;

6) *постійність орієнтації вектора* [28, 39, 44].

До цього переліку додамо ті параметри, які мають відношення до взаємодії ЕМП і організму: експозиція і локалізація впливу; властивість самої тканини, на яку впливають провідність, проникність, анізотропія; вихідний стан організму [44] та індивідуальна чутливість, наявність в організмі сторонніх тіл (штучних клапанів), ксенобіотиків. Певна комбінація перелічених параметрів і буде відповідальною за належність ЕМП до тієї чи іншої групи та характеризуватиме вираження, тривалість і спрямованість реакції-відповіді організму. Вже з першого погляду на перелік характеристик зрозуміло, що недоцільно в загальному характеризувати вплив ЕМП на живий об'єкт. Потрібно чітко обумовити всі параметри впливу. Саме цю проблему можна побачити, проаналізувавши літературні дані про впливи ЕМП на біологічні системи, де стверджуються діаметрально протилежні висновки, ставляться під сумнів результати інших авторів, через неможливість їх відтворення (оскільки немає повної характеристики впливу і не завжди оцінений вихідний стан організму).

Метою цього огляду є характеристика низькочастотних ЕМП із низькою інтенсивністю, більшість з яких співмірні з геомагнітним



полем. Низькочастотними вважаються поля з частотою 0-300 Гц (за даними ООН) [12]. Інтенсивність магнітного поля Землі змінюється від 24 мкТл у районі Ріо-де-Жанейро до 61-68 мкТл поблизу географічних полюсів [8]. Сконцентруємо увагу на параметрах полів, які будемо характеризувати: низькочастотні низькоенергетичні, низькоградієнтні імпульсні, змінні чи комбіновані (поєднання постійного магнітного поля із змінним). Дані поля практично не спричиняють прямого енергетичного впливу на об'єкт (енергія їх набагато менша за енергію теплового руху частинок) і за характером дії належать до нетеплових, інформаційних та інформергічних полів [28, 38, 39].

Чому ж вибрано саме такий діапазон і чи має сенс питання про реагування живої системи на цю частину спектра ЕМП? Спробуємо обґрунтувати і на основі літературних даних останніх десятиліть довести справедливості таких тверджень, прокоментувати певні суперечливості, згрупувати відомі й менш визнані теорії механізму впливів, зробити акцент на основних незрозумілих моментах. Керуватися при цьому будемо передусім сучасними уявленнями про адаптаційні процеси, резистентність організму [5], його потенційні можливості [35] із врахуванням позицій біокібернетики з її основним постулатом про "стійку нерівновагу" [45]. Актуальність даної проблеми викликана надзвичайною інтенсифікацією використання ЕМП у повсякденному житті (комп'ютери, лінії електропередач, промислове виробництво, генератори) [32], відкриттям нових їх ефектів. Так, застосування ЕМП як носіїв інформації забезпечує взаємозв'язок на всіх рівнях ієрархічної організації живої матерії від клітини до біосфери [19].

Потреба в нових засобах для немедикаментозного лікування і профілактики, пошуку засобів стимуляції і розвитку адаптативних можливостей, переведення функціонування організму на вищий енергетичний щабель для підвищення коефіцієнта корисної дії системи сприяють розвитку даного напрямку. Еволюційна сприйнятливості до впливу ЕМП підтверджена з кількох позицій [38, 45]. Розвиток життя на планеті нероздільно пов'язаний із зовнішніми параметрами середовища. Будь-яка система сприймає лише ті фактори впливу, які впродовж певного еволюційного відрізка створювали адекватну відносно неї дію. Так, ЕМП є одним із факторів впливу навколишніх земного і космічного середовищ, які присутні протягом усього часу існування живого на планеті й, безумовно, діють на процес формування

живої матерії і закладені в її сутність, будучи однією з первинних систем передачі інформації [19, 45]. Деякі види бактерій, одноклітинних водоростей орієнтуються в магнітному полі Землі й рухаються відповідно до його напрямку, що має певне значення для їх виживання. Складнішим є використання геомагнітного поля міграційними рибами, бджолами та перелітними птахами. Доведено, що риби змінюють напрямок руху в басейні згідно із штучною зміною зовнішнього магнітного поля в умовах експерименту [28]. Подібним чином орієнтуються і птахи, які з неймовірною точністю здійснюють перельоти на тисячі кілометрів, використовуючи лише так звану магнітну карту Землі. Припускають, що в них за магнітоточливість відповідають феромагнітні включення в особливих клітинах, локалізованих у кістках основи черепа. Точні механізми рецепції поки що не відомі, проте вже створено декілька принципових моделей рецепції ЕМП біогенним магнетитом, що дозволяють пояснити підсилення слабкого інформаційного впливу і реалізувати реакцію відповіді на рівні центральної нервової системи [8, 45].

Еволюційно-адаптаційна сприйнятливості організму до ЕМП витікає із ще однієї позиції щодо взаємодії поля з організмом – необхідності ЕМП для розвитку живої системи. Даний феномен відкрито і підтверджено експериментально. При перебуванні експериментальних тварин в екранованих камерах (без ЕМП) спостерігалися зниження резистентності, адинамія, зменшення тривалості життя, збільшення частоти виникнення пухлин [38]. При проведенні досліджень з питання виникнення життя (амінокислот, білків) у первинному "бульйоні" встановлено, що за умов, які відрізняються лише наявністю ЕМП, відмічено якісно і кількісно різний склад органічних молекул та глобул. Дана позиція має ще й чітко прикладний інтерес. Особливо гостро ставить ці питання космічна медицина. Як позначиться на здоров'ї людини зміна спектра ЕМП міжпланетного простору за тривалий час? Виходячи із вищесказаного, спираючись на позиції біокібернетики, можна припустити ще одну властивість ЕМП щодо біологічного об'єкта – здатність наднизькочастотних і низькочастотних низькоінтенсивних ЕМП до синергічного впливу та синхронізації з біоколивними процесами на молекулярному, клітинному і організмовому рівнях, що визначаються просторово-часовими градієнтами поля, які лежать в основі енерго-інформаційної взаємодії. Цілісний організм може існувати, з одного боку, тільки при відповідності фазових

співвідношень коливних процесів у клітинах, тканинах, органах і функціональних системах, з іншого – при їх синхронізації з умовами зовнішнього середовища [1]. На сьогодні це положення не викликає сумніву, підтверджене великою кількістю модельних біофізичних досліджень *in vitro* й експериментами *in vivo*. Так, при достатній тривалості впливу ЕМП можна очікувати “захоплення” системою частоти даного сигналу і формування на його основі відповідної просторово-часової організації її підсистем [40]. Організми, можливо, використовують регулярно повторювані зміни параметрів зовнішнього середовища, включаючи ЕМП як “тимчасовий ключ” при синхронізації біологічних ритмів [34]. Найяскравішим і незаперечним фактом такого впливу є чутливість великої кількості людей із зниженою резистентністю чи хворих (переважно на серцево-судинні, ендокринні, захворювання ЦНС) до так званих геомагнітних бур, різних змін і коливань геомагнітної обстановки, флуктацій сонячної активності [29]. Переважна більшість ефектів таких змін негативна: зниження працездатності, загального тону, підвищення рецидивів хвороб. Даний негативний вплив можна зрозуміти з таких міркувань. Чутливість до таких змін індивідуальна і чіткіше виражена у хворих чи ослаблених людей, які не здатні “засвоїти” (сприйняти і нівелювати) хаотичні, стрибкоподібні зміни ГМП, що призводить до розладу власних біоритмів і перш за все відбивається на діяльності ЦНС і серцево-судинної системи. Показовим є і той факт, що система найбільш виразно реагує на високочастотні впливи, модульовані низькочастотною складовою [11]. Більш важливими є кореляція і синхронізація ЕМП з ендогенними ЕМП людини, які за багатьма параметрами наближені до аналізованих полів. Саме така позиція є однією з ключових в аспекті розгляду профілактичного і лікувального застосування ЕМП у медичній практиці. Кореляція проглядається на всіх рівнях організації живої матерії. Отже, будь-який рух зарядженої частинки призводить до утворення ЕМП. Так, за допомогою сучасних приладів виміряні магнітні моменти, ЕМП багатьох систем частин і органів [37]. Найпоказовішою ілюстрацією даного положення є характеристика нервової системи. Ритми головного мозку на ЕЕГ за своїми характеристиками до певної міри нагадують аналізовані поля [39]. Кожен нейрон є джерелом ЕМП. Доповнення до класичного пояснення механізму поширення потенціалу дії дає солітонна теорія, згідно з якою іонні ка-

нали електромагнітно являють собою коливні контури, що взаємодіють один з одним у процесі деполяризації мембрани за допомогою ЕМП [10]. Відкриття таких механізмів дозволило припустити, що магнітне поле в організмі діє за типом “поле на поле” [1]. Ще в 30-х роках В.А. Леонтович, спираючись на подібність у будові нервової клітини і контура Томсона, сформулював гіпотезу про сприйняття одним нейроном ЕМП іншого [37]. А в 70-х роках В.П. Скулачовим висунуто припущення про електричні поля в мембранах клітин як універсальну форму енергії, яка об’єднує в єдину енергосистему велику кількість окремих генераторів – комплексів окиснювальних ферментів і АТФ-аз, які закріплені в спряжених ділянках мембран [45].

Слід ще раз звернути увагу на інформаційний характер впливу ЕМП [29]. Спроби інтерпретації біологічних ефектів нетеплових ЕМП із позицій термодинаміки призводять до уявлень про флуктаційну ймовірність їх впливу, що реалізується через тригерні підсилювальні механізми живої системи [39]. Це з біокібернетичних позицій задовольняє практично всі її теорії і чітко вписується в механізми існування коливних періодичних процесів як окремої одиниці живого, а також в процеси інформаційної взаємодії як всередині живої системи, так і в біосфері в цілому [18, 19, 45, 48]. Ефекти впливу – найрізноманітніші, до того ж вплив ЕМП реалізується через безпосередню дію не тільки на ЦНС, але й інші системи організму. Оскільки ЕМП не мають своєї рецепторної ланки, вони сприймаються як адекватний подразник, відповідь на який розвивається за повільним типом і підтверджена суб’єктивними відчуттями досліджуваних людей і об’єктивними даними [31, 37, 39]. З цих позицій частково можна пояснити неоднозначність ефектів ЕМП, спричинену індивідуальною чутливістю, адже індивідуальна електромагнітна реактивність поки що пов’язана з переважанням тону симпатичного чи парасимпатичного відділу нервової системи [38]. Локальне застосування ЕМП у ділянці головного мозку, за деякими даними, є більш ефективним [44]. Відомо, що магнітне поле активує раніше незадіяні клітини нервової системи, що свідчить про пусковий вплив ЕМП на клітини нервової системи, який має інформаційний характер, чим автори пояснюють збільшення сили і зменшення часу нападів у хворих на епілепсію [1]. При загальному застосуванні ЕМП деякі автори [39] головну роль у рецепції відводять больовим рецепторам шкіри, хоча дане припущення навряд чи є абсолютно правильним,

оскільки в організм людини проникає магнітне поле, точкою прикладення якого, як буде показано нижче, є клітинний і субклітинний рівні організму, а розвиток цих реакцій у цілісну відповідь буде залежати від багатьох факторів. Ефект дії на нервову систему найбільш виражений. Крім цього, вивчено вплив на серцево-судинну систему, систему крові, процеси післятравматичних станів [2, 46]. Згідно з дослідженнями, проведеними Н. Удінцовим, магнітне поле (МП) чинить короткотривалий стимулювальний вплив на систему “гіпофіз-надниркові залози”, інсулярний апарат, щитоподібну залозу внаслідок активації гіпоталамічних центрів, чутливих до ЕМП, і стимуляції виділення тропних гормонів. Про вплив на серцево-судинну систему і систему крові свідчать роботи Л. Демецького, в яких автор вказує на чутливість даних систем до дії постійного і змінного магнітних полів; М. Уколової, яка при вивченні стану системи згортання крові при загальних адаптаційних реакціях, викликаних дією слабких постійних та змінних магнітних полів, показала, що за допомогою МП можна добитись оптимізації коагуляційного гомеостазу крові [26]. До впливу на мікроциркуляцію і систему крові [9] має відношення і проти-запальний ефект, який, у свою чергу, тісно пов’язаний із дією на ізоформи циклооксигеназ [12] та мітохондріальні мембрани [43]. Позитивні результати дає застосування ЕМП при лікуванні виразкової хвороби [23, 42]. Широко використовують магнітотерапію в травматології [46], а також інших галузях медицини [2]. У багатьох епідеміологічних роботах перевіряли гіпотези про зв’язок між частотою виникнення пухлин і підвищеним рівнем штучних слабких ЕМП. Певну статистично достовірну залежність виявлено в роботах [47, 58, 59]. Разом із тим жодних вірогідних ефектів в роботах [53, 54, 57, 59] не виявлено. Під час проведення експериментальних досліджень на лініях клітинних визначено залежність ефекту дії ЕМП від ступеня диференціації клітин і функціональної активності [50, 52]. Деякі автори виключають гіпотезу про те, що слабкі ЕМП можуть бути ініціатором канцерогенезу, проте підтверджують можливість зміни швидкості росту та метастазування пухлини [55, 56]. Залежно від ступеня активації метаболічних процесів, вплив ЕМП може бути стимулювальним, пригнічувальним або індиферентним для однакових параметрів поля [50]. Інший аспект взаємодії ЕМП із пухлинами – магнітотерапія новоутворень. Є свідчення про можливість керування за допомогою магнітних радіочутливістю ракових клітин, крім того,

показана антиоксидна дія ПМП [25]. Також усе частіше зустрічаються повідомлення про застосування магнітотерапії в онкологічній клініці [4, 6, 41].

Узагальнюючи, можна сказати, що, на думку більшості авторів, ЕМП чинить явно виражену анальгезивну, протизапальну, гіпотензивну, антиастматичну дію. Добрі результати можна одержати, коли лікар застосовує концепцію про адаптаційні реакції і за допомогою ЕМП підтримує хворого в стані стійкої активації [28].

Часткове пояснення різноманітним ефектам дає феномен “window” ефектів, тобто існування частотно-амплітудних інтервалів спектра електромагнітного випромінювання [24, 40, 49], в діапазоні яких організм максимально сприйнятливий до дії ЕМП і відповідає найбільш вираженими змінами. Також у цьому інтервалі кожна з підсистем має свою невелику ділянку спектра, в якій дає максимально великий резонансний відгук. Теорія “window” ефектів справедлива для всіх ЕМП, причому слід відзначити, що основна роль належить частотній складовій, коли інтенсивність змінюється не суттєво (в інтервалі кількох порядків). З точки зору біокібернетичних поглядів, резонансна відповідь на певний діапазон ЕМП пояснюється наявністю спеціальних тригерних реакцій, сигналом для запуску яких є поле певних параметрів [45].

Оскільки побудова біологічної теорії повинна базуватись на біохімічному фундаменті, важливо прослідкувати зміни на клітинному і молекулярному рівнях. Так, магнітне поле змінює ймовірність і швидкість хімічних реакцій та можливість рекомбінацій вільних радикалів (ВР), особливо за участю кисню, іонів Fe, Cu, Mn, Mg, Ca [39]. За даними [16], ПМП пришвидшує реакцію розпаду  $H_2O_2$  каталазою і комплексом ЕДТА з  $Fe^{3+}$ . Дані зміни обґрунтовані квантово-механічними закономірностями взаємодії ЕМП із ВР [9]. Будь-яка каталітична реакція відбувається за участю субстрату, каталізатора (ферменту) і середовища. Тому не виключена можливість дії ЕМП на ці складові процесу. Їх вплив на молекули й іони зумовлений, перш за все, наявністю заряду чи дипольного моменту, а також кількох ізоенергетичних конформацій макромолекул, переходу між якими відбуваються спонтанно і можуть бути точкою прикладення ЕМП (внаслідок внутрішньомолекулярних напружень структуризованих молекул) [39]. Розглянемо окремо молекули води, яка відіграє роль середовища в більшості реакцій. Великий дипольний момент, висока діелек-

трична проникність роблять воду привабливим об'єктом впливу ЕМП, що представлено теоріями опосередкованої дії на живу систему через водне середовище [39], широким застосуванням намагніченої (структуризованої) води, проілюстровано експериментальними впливами ЕМП на водні системи *in vitro* [2]. Окремим пунктом стоїть питання про дію ЕМП на каталітичну активність ферментів, можливими точками прикладення якої є вплив на мікрооточення, хід реакції, молекулу самого білка. Причому магнітних ефектів слід чекати там, де реагуючі центри як-небудь закріплені й реакція між ними проходить за тунельним механізмом. Магнітний ефект може спостерігатись як при одноелектронному переносі, де утворюються ВР, так і при синхронному переносі двох електронів, де ВР не утворюються [39]. Оскільки більшість ферментів є мембранозв'язаними чи мембранозалежними, то вклад зміни активності різних ферментів і їх комплексів може розвинути у виражену фізіологічну реакцію. Зафіксовано вплив ЕМП на всі рівні метаболізму: ліпідний, білковий, вуглеводневий та енергетичний [1, 36, 49]. Так, у роботі [21] йдеться про дію полів на електронно-транспортний ланцюг і спряження процесів окислення та фосфорилування. Показано також цитологічні й морфологічні зміни різних тканин, особливо швидкопроліферувальних [17, 52, 56]. Великої уваги в цьому контексті заслуговує робота [20], де говориться про виражений вплив імпульсних магнітних полів різних інтенсивностей і експозицій на вуглеводневий, азотистий і нуклеотидний обмін у тканинах головного мозку. Тут якраз дискоординація метаболічних процесів при дії імпульсного МП є однією з основних причин зміни не тільки функцій, а й структури нервової тканини.

Закцентуємо свою увагу на впливі ЕМП, реалізованому через  $O_2$  і кисеньзалежні процеси (перекисне окиснення ліпідів та дихання), що призводить до перебудови окисного метаболізму, ферментативної і функціональної активності тканини, збільшення швидкості поглинання кисню мітохондріями, активності сукцинатдегідрогенази (СДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, зниження концентрації глікогену [1]. Згідно з даними [39], під впливом ПМП виникають суттєві градієнти концентрації  $O_2$ , розчинного в рідинах, що спричиняє перерозподіл його в даному об'ємі (на клітинному чи субклітинному рівнях) рідини відповідно до зміни балансу  $O_2$  в тканині (клітині) й швидкості ряду реакцій, що і продемонстровано при застосуванні магніто-

терапії в онкології [25]. Широко обговорюється можливість утворення синглетного кисню під дією ЕМП. Відомо, що синглетний кисень взаємодіє з ненасиченими жирними кислотами (НЖК), утворюючи гідропероксидази із швидкістю в  $1,5 \cdot 10^3$  разів вищою, ніж кисень в основному стані, й що характерною рисою цієї реакції є гідропероксидази з ізольованими подвійними зв'язками. Тому при дії МП, імовірно, відбувається збільшення кількості цих продуктів окиснення, порівняно з гідропероксидами із спряженими зв'язками, які утворюються в результаті взаємодії НЖК із триплетним  $O_2$ . Тому завдяки спін-спіновим взаємодіям у середині триплетної пари, яка утворюється в ході ВР-реакції окиснення при зовнішньому магнітному полі [16], збільшення виходу синглетного кисню призводить до зміни швидкості утворення продуктів окиснення, що має важливе значення для формування нових енергетичних станів і регуляторних впливів [35]. Крім цього, заслуговують на увагу і мембрани мітохондрій, де локалізована більшість найчутливіших до ЕМП ферментів. У роботі [39] встановлено зв'язок ефектів слабких МП із ритмічними змінами в проникності мембран. Ці дані зіставимі з впливом ЕМП на активність  $Na^+K^+$ -АТФ-ази й енергетику мітохондрій [44], проникністю мембран для іонів  $Ca^{2+}$  [39]. При впливі ЕМП можлива взаємодія електричної складової з дипольно-кооперативною системою мембран мітохондрій, при цьому ймовірна ініціація струму деполяризації в сегнетоелектриці та, як наслідок, активація дихального ланцюга. За аналогією, магнітна складова, відповідно до механізму спінової заборони, може ініціювати тунельне перенесення електронів у викривлених ян-телеровських структурах з електронним виродженням, які містять негемове залізо і сірку, тобто у Fe-S-вмісних білках, що широко представлені в мембранах мітохондрій [39]. На користь цих робіт свідчать дані [2, 3, 9], в яких підтверджено вплив змінного МП на процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і проникність мембран. Тут особлива роль надається тунельному перенесенню електронів і протонів (що, на думку авторів, може означати збільшення чутливості до слабких ЕМП), об'ємним зарядам на поверхні клітинних мембран і органел. Причому і тут присутній синхронізуючий ефект ЕМП: спостерігається організація тимчасового обміну продуктів ПОЛ (що, як відомо, є потужними регуляторами обміну [5]) і сумарних тіолових груп, яку автори пов'язують із механізмом вимушеної синхронізації [27]. Цікавим у даному контексті є

вплив ЕМП на енергетику мітохондрій [43], де також проявляються хвилеподібні зміни, що найбільш чітко проявляються в показнику дихального контролю.

Підсумовуючи вплив ЕМП на ферменти та їх комплекси, бачимо таку ситуацію: найчутливішими до його дії є лактатдегідрогеназа, ферменти дихального ланцюга, системи антиоксидного захисту (каталаза, супероксиддисмутаза, пероксидаза), а також деякі оксигенази такі, як, циклооксигеназа, ліпоксигеназа, цитохром P<sub>450</sub> [12]. Очевидно, більшість перерахованих ферментів каталізують реакції за вільнорадикальним механізмом. Дуже мало є літературних даних про вплив на систему циклічних нуклеотидів (цАМФ і цГМФ), які відіграють надзвичайно важливу регуляторну роль [25].

Оскільки ми вже частково розглянули молекулярні механізми дії ЕМП, то спробуємо виокремити і сформулювати найповніші, найчастіше висловлювані теорії.

*Макроскопічні теорії.* Не вимагають аналізу молекулярних та квантових механізмів і розглядають систему макроскопічно. До них відносять магнітогідродинамічні, орієнтаційні, концентраційні теорії [22]. На сьогодні ці моделі застарілі й не можуть бути використані для пояснення експериментальних даних.

*Теорії резонансного підсилення первинного модуляційного впливу.* З точки зору про інформаційно-резонансну біологічну дію ЕМП, припускається певне співвідношення властивостей мішені й просторово-часових характеристик поля, що забезпечує багаторазове збільшення кінцевого результату і характеризується феноменом “window” ефектів [49]. При цьому частотна залежність ефекту нагадує за формою резонансну характеристику коливного контуру, тому говорять про резонансні чи квазирезонансні ефекти [31]. При збігу характеристичних частот коливних процесів із частотами зовнішнього впливу можна сподіватися максимальної зміни функціональної активності біологічної системи. Однією з краще розроблених фізичних моделей резонансного впливу є теорія циклотронного резонансу. Необхідною умовою його виникнення є наявність комбінованого МП (комбінація постійного та змінного). Найпривабливішою мішенню для резонансу вважають іони Ca<sup>2+</sup>, оскільки регуляція багатьох біохімічних процесів всередині клітини здійснюється за їх допомогою. Припускається, що слабкі ЕМП можуть впливати на Ca<sup>2+</sup>-залежні системи внутрішньоклітинної сигналізації шляхом зміни реакційної здатності іонів кальцію, його мікрооточення і/або спорід-

неності білків, особливо це стосується кальмодуліну [14, 24]. Непоміченими “прихильниками” цієї теорії, на нашу думку, залишилися іони Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>, які містяться в багатьох ферментних комплексах, Fe-вмісних білках. Особливу увагу в цьому контексті слід звернути на трансферин, зміни в динаміці якого також чітко виражені при застосуванні ЕМП [20]. Серед інших можливих впливів слід відзначити сприйняття живою системою частоти магнітного поля за механізмом вимушеної синхронізації процесів [1, 7, 13, 27, 39].

*Теорії опосередкованого впливу.* Суть їх полягає у впливі на метаболічну активність клітинних структур шляхом зміни впорядкованості, структуризації гідратних оболонок іонів, низько- та високомолекулярних білків, внаслідок чого змінюється їх здатність до взаємодії. Система “вода-макромолекула (білок)” нероздільна без руйнації тонкої структури, бо структуризація води і зміна її хімічного потенціалу призводять до зміни хімічного потенціалу білків. Структуризація води здійснюється залишками макромолекул, що зумовлює зменшення ентропії. Прагнення системи до її збільшення зумовлює взаємодію неполярних залишків між собою, що є рушійною силою гідрофобних взаємодій. Тоді зниження діелектричної провідності води та її структуризація ЕМП повинні призводити до зміни гідрофобних взаємодій: посилення чи послаблення їх залежно від параметрів поля. Ймовірно, стійкість білків до денатурації, зафіксовану при дії ЕМП, можна пояснити цими теоріями [39]. За їх допомогою також можна пояснити такий феномен, як вплив намагніченої (структуризованої) води чи розчинів лікарських засобів, суть якого зводиться до передачі інформації ЕМП через формування ближньо-дальних порядків водного середовища і перерозподілу частинок на поверхні поділу фаз.

*Квантові теорії взаємодії.* Розглядається можливий вплив ЕМП на процеси рекомбінації вільних радикалів, спінові переходи, ініціацію механізмів тунельного перенесення, активацію ділянок надпровідності в мембранах. Ефект перш за все реалізується шляхом безпосереднього впливу на ВР-реакції окиснення (дія на спінові моменти ядер, реалізацію ефекту Зеємана, ініціацію синглет-триплетних переходів) [3, 22, 39, 45, 49]. Перераховані явища, як сьогодні вважають, лежать в основі практично всіх біохімічних перетворень у клітині. Зрозуміло, ймовірність таких ефектів досить мала, але, враховуючи лавиноподібність ланцюгових реакцій за участю вільних радикалів та надзвичайно високу метаболічну активність

продуктів пероксидації, багато з яких беруть участь у виконанні регуляторних функцій та формуванні колатеральних метаболічних шляхів, можна сподіватись на помітні ефекти. Саме активним формам кисню (АФК) та продуктам їх рекомбінації останнім часом починають відводити важливу роль у механізмах адаптації, активації репараційних та суперкомпенсаторних процесів при стресових станах [5, 35].

Враховуючи важливість перелічених ефектів, вважаємо за доцільне детальніше розглянути питання адаптації, спираючись при цьому на найновіші положення про роль АФК, ПОЛ і феномен наробки ендogenous кисню [35], знаючи, що вони є можливою мішенню дії ЕМП та відіграють вагомую роль у забезпеченні функціональної активності [25, 50, 60]. На сьогодні вже незаперечним є той факт, що вплив ЕМП збільшує неспецифічну резистентність організму, особливо може підвищувати стійкість до пухлин, інфекційних захворювань, іонізуючого випромінювання, факторів високогір'я [15, 38]. Причому за умови адекватно підібраних параметрів ЕМП активуються адаптаційні реакції організму, що характеризуються компенсаторними і суперкомпенсаторними процесами [17], з можливістю кумулятивного ефекту, що слід враховувати при виборі оптимальних режимів експозиції. АФК, ПОЛ з позицій адаптативної відповіді, згідно із теорією Г. Сельє, відіграють роль первинного і вторинного медіаторів стресу, стимуляторів адаптативних відповідей. Відповідно до підходів М. Тимочка [35], помірною активацією ВР-реакцій ПОЛ забезпечує оптимальну генерацію ендogenous  $O_2$ , усунення кисневого дефіциту в переважній більшості клітин і викликає активацію енергетичних, анаболічних, антиоксидантних та репаративних процесів, що сприяє формуванню суперкомпенсаторних змін, переведенню біосистеми на новий метаболічний рівень. ЕМП, на нашу думку, може бути ефективним активатором цих процесів. Місцем стику адаптаційного ефекту, крім дії на реакції вільнорадикального окиснення і підтримання балансу ПОЛ/АОС, є здатність до "захоплення" частоти і синхронізації із зовнішнім впливом, адекватним і найбільш імовірним у природних умовах [31, 45]. Адаптивність системи в ділянці нестійкості до зовнішньої, навіть дуже слабкої дії надзвичайно висока і реакція-відповідь збільшується в декілька порядків [27]. Розвиток адаптативних реакцій залежить і від вихідного стану організму, що показано в роботі [33], коли при однакових впливах у

різних груп тварин розвинулись стрес-реакція, адаптативна відповідь і адаптативна відповідь із суперкомпенсаторним вкладом.

Саме режим, дози, локалізація впливів і вихідний рівень організму мають основне значення в магнітотерапії, яка широко представлена як за кордоном (Японія, Німеччина), так і в нашій державі. Широко застосовують так звані магнітні пояси, браслети тощо, які, поряд з ефектами магнітотерапії, впливають на активні точки організму згідно з теорією акупунктури. З позицій традиційної медицини, найбільш застосовуваними на сьогодні є апарати магнітотерапії "Полюс", "Маг", "Біоскан" тощо, з'являються перші рекомендації методичного плану щодо використання ЕМП.

Основними напрямками застосування ЕМП у медицині є, на нашу думку:

- підвищення неспецифічної резистентності здорових людей до несприятливих впливів;
- пришвидшення тренування та періоду відновлення після фізичних навантажень у спортсменів;
- профілактика проявів гіподинамії у тяжкохворих та людей, які ведуть малорухомий спосіб життя;
- тренування людей, чутливих до магнітних бур;
- застосування ЕМП у комплексній терапії разом із лікарськими засобами.

Для раціонального використання ЕМП, враховуючи вищесказане, необхідно сформулювати критерії динамічної оцінки якісних і кількісних змін параметрів організму під дією полів. До них ми пропонуємо віднести інтегральні біохімічні та фізіологічні показники кисневого гомеостазу (газовий склад крові, рН, сатурацію кисню, частоту серцевих скорочень, артеріальний тиск, тонус вегетативної нервової системи) та систему показників ПОЛ/АОС, які є чутливими і показовими критеріями оцінки як вихідного функціонального стану, так і ефективності лікування.

На основі вищесказаного можна зробити такі висновки:

- людський організм пристосований до впливу слабких електромагнітних полів і певним чином реагує на них;
- характер відповіді залежить від параметрів поля, експозиції і реактивності організму та має нелінійний характер;
- інтимні механізми взаємодії до кінця не з'ясовано (найпривабливішими мішенями є іони  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ , ферменти і вільнорадикальні реакції, система кисневого гомеостазу, клітинні та мітохондріальні мембрани);

– на сьогодні лікування ЕМП має емпіричний характер і потребує теоретичного обґрунтування та розробки об'єктивних критеріїв оцінки взаємодії ЕМП і біосистеми;

– найперспективнішим є застосування комбінованого електромагнітного поля в лікуванні й профілактиці, а також ад'ювантне використання в терапії різних патологічних станів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Власова И.Г. Влияние инфранизкого магнитного поля на ритмику нервных клеток и их устойчивость к гипоксии // Биофиз. – 1992. – **37**, № 4. – С. 681-689.

2. Актуальные вопросы магнитобиологии и магнитотерапии: Сб. работ респуб. науч.-практ. конф. – Ижевск, 1981. – 199 с.

3. Аристархов В.М., Клиенко Л.Л., Деев А.И., Иванеха Е.В. Влияние постоянного магнитного поля на процессы перекисного окисления липидов в фосфолипидных мембранах // Биофиз. – 1983. – **28**, № 5. – С. 800-806.

4. Ахметов В.Д., Лю Б.Н., Джамалдинов Д.Д. и др. Комбинированная магнитолучевая терапия рака молочной железы // Вопр. онкол. – 1992. – № 7. – С. 823-828.

5. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Здоров'я, 1997. – Т. **1**. – 201 с., Т. **2**. – 220 с.

6. Бессмельцев С.С., Балашова В.А., Абдулкадыров К.М. Влияние *in vitro* постоянного и импульсного магнитного поля на колониобразующую способность клеток костного мозга гематологических больных // Вопр. онкол. – 1998. – **44**, № 3. – С. 310-315.

7. Бецкий О.В., Девятков Н.Д., Лебедева И.Н. Лечение электромагнитными полями // Биомед. радиоэлектрон. – 2000. – № 7. – С. 3-10.

8. Биогенный магнетит и магниторецепция. Новое о биомагнетизме / Под ред. В.А. Троцкой, Ю.А. Холодова. – М.: Мир, 1989. – Т. **1**. – 353 с., Т. **2**. – 525 с.

9. Боголюбов В.М. Состояние и перспективы исследования биологического и лечебного действия магнитного поля // Вопр. курортол., физиотер. и леч. физкультуры. – 1981. – № 1. – С. 1-7.

10. Волобуев А.И., Жуков Б.И., Бахито А.У. и др. Влияние импульсного магнитного поля и лазерного излучения на нейрофизиологические процессы // Биофиз. – 1993. – **38**, № 2. – С. 372-377.

11. Гапеев А.Б., Чемерис Н.К. Модельный подход к анализу действия модулированного электромагнитного излучения на клетки животных // Биофиз. – 2000. – **45**, № 2. – С. 299-312.

12. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. – Женева, 1992. – Вып. 69. – 120 с.

13. Гурфинкель Ю.И., Военков В.А., Буравлева Е.В., Кондаков С.Э. Влияние геомагнитной активности на динамику седиментации красной

крови больных ишемической болезнью сердца // Биомедиц. радиоэлектрон. – 2000. – № 4. – С. 3-11.

14. Дерюгина О.Н., Писаченко Т.М., Жадин М.Н. Комбинированное действие переменного и постоянного магнитных полей на поведение крыс в “открытом поле” // Биофиз. – 1996. – **41**, № 3. – С. 762-764.

15. Зубкова С.М. Адаптивные изменения в организме при действии электромагнитных полей // Биофиз. – 1996. – **41**, № 4. – С. 906-912.

16. Кадников О.Г. Влияние магнитных полей на свободнорадикальные реакции окисления // Письма в журн. теоретич. физики. – 1978. – **4**, № 1. – С. 32-34.

17. Казанин В.И. Стадийность, обратимость и компенсация магнитобиологических реакций в изолированных клетках и тканях // Медиц. радиол. – 1986. – **31**, № 4. – С. 62-66.

18. Казначеев В.П., Михайлова Л.П. Сверхслабые излучения в межклеточных взаимодействиях. – Новосибирск: Наука, 1981. – 215 с.

19. Казначеев В.П., Трофимов А.В. Проблемы новой космогонии. Выживание в живом пространстве. – Новосибирск: Наука, 1994. – 124 с.

20. Колодуб Ф.А., Евтушенко Г.И., Островская И.С., Максименко И.В. Влияние электромагнитных полей низкой частоты на организм. – К.: Здоров'я, 1978. – 131 с.

21. Колодуб Ф.А. Информативность некоторых биохимических показателей при оценке влияния на организм переменных электрических и магнитных полей низкой и промышленной частот // Гиг. и сан. – 1989. – № 10. – С. 87-89.

22. Кузнецов А.Н., Ванаг В.К. Механизмы действия магнитных полей на биологические системы // Изв. АН СССР. Серия: Биология. – 1987. – № 6. – С. 814-826.

23. Куценюк Л.А. Влияние электромагнитных полей миллиметрового диапазона на иммунный статус больных язвенной болезнью // Лік. справа. – 1994. – № 9-12. – С. 139-142.

24. Леднев В.В. Биоэффекты слабых комбинированных, постоянных и переменных полей // Биофиз. – 1996. – **41**, № 1. – С. 224-232.

25. Лю Б.Н., Шайхутдинов Е.М. Физико-химические и биокибернетические аспекты онкогенеза. – Алма-Ата, 1991. – 274 с.

26. Магнитобиология и магнитотерапия в медицине // Материалы Всесоюз. научн.-практ. конф. “Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной

физкультуры". – 1981. – № 2. – С. 75-77.

27. Мартынюк В.С. К вопросу о синхронизирующем действии магнитных полей инфранизких частот на биологические системы // Биофиз. – 1992. – **37**, № 4. – С. 669-673.

28. Плеханов Г.Ф. Основные закономерности низкочастотной электромагнитобиологии. Томск: Изд. Томск. у-та, 1990. – С. 26-27.

29. Раевская О.С. Геомагнитное поле и организм человека // Усп. физиол. наук. – 1988. – **19**, № 4. – С. 91-108.

30. Рощин В.А. Оценка локализованного взаимодействия магнитного поля на организм человека в лабораторных условиях // Гиг. труда и профзабол. – 1985. – **37**, № 4. – С. 33-36.

31. Сидякин В.Г. Влияние флуктуаций солнечной активности на биологические системы // Биофиз. – 1992. – **37**, № 4. – С. 647-652.

32. Смердов А. Магнитотерапія: минуле, сучасне, майбутнє // Мед. газ. Укр. – 1996. – № 34 (126). – С. 6-7.

33. Темуриянц Н.А., Грабовская Б.Ю. Реакции крыс с различными конституционными особенностями на действие слабых переменных магнитных полей крайне низких частот // Биофиз. – 1992. – **37**, № 4. – С. 817-820.

34. Темуриянц Н.А., Манев В.Б., Малыгина В.И. Влияние слабых переменных магнитных полей крайне низких частот на инфрадианную ритмику симпатoadреаловой системы крыс // Биофиз. – 1992. – **37**, № 4. – С. 653-655.

35. Тимочко М.Ф., Єлісеєва О.П., Кобилінська Л.І., Тимочко І.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. – Львів: Місіонер, 1998. – 142 с.

36. Удинцов НА., Иванов В.В., Мороз В.В. Влияние низкочастотных магнитных полей на обмен веществ и его регуляцию // В кн.: Биологические эффекты электромагнитных полей. Вопросы их использования и нормирования. – Пушкино, 1986. – С. 94-108.

37. Холодов Ю.А. Магнитные поля биологических объектов / Под ред. М.О. Айрапетянц. – М.: Наука, 1987. – С. 26-27.

38. Холодов Ю.А. Шестой незримый океан. – Москва: Знание, 1978. – 112 с.

39. Холодов Ю.А., Шишло М.А. Электромагнитные поля в нейрофизиологии. – М.: Наука, 1979. – 168 с.

40. Чемерис Н.К., Сафронова В.Г. Слабое низкочастотное магнитное поле индуцирует частотно-зависимые флуктуации периода сокращений сердца *Daphnia Magna* // Биофиз. – 1993. – **38**, № 3. – С. 511-514.

41. Шихтярова А.И., Шейко В.А., Пиль Э.А. Оценка противоопухолевого эффекта и анализ активности дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови крыс с опухолью С-45 при воздействии слабых инфранизкочастотных магнитных полей // Вопр. онкол. – 1999. – **45**. – № 3. – С. 287-291.

42. Шишкина Т.И., Иванова В.В. Изучение эффективности электромагнитных излучений милли-

метрового диапазона и переменного магнитного поля низкой частоты в сочетании с гипербарической оксигенацией при лечении язвенной болезни // Лік. справа. – 1994. – № 9-12. – С. 93-96.

43. Шишло М.А., Кубли С.Х., Шимкевич Л.П. Формирование адаптационных реакций организма при действии постоянных магнитных полей // Вопр. курортол., физиотер. и леч. физкульт. – 1981. – № 4. – С. 12-18.

44. Шишло М.А. О биотропных параметрах магнитных полей // Вопр. курортол., физиотер. и леч. физкульт. – 1981. – № 3. – С. 61-63.

45. Электромагнитные поля в биосфере / Под ред. Н.В. Красногорской. – М.: Наука, 1984. – Т. **1**. – 312 с., Т. **2**. – 298 с.

46. Электротерапия травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата. – Рига: РМИ, 1987. – 198 с.

47. Baldwin W.S., Barret I.C. Melatonin receptor-mediated events that may affect breast and other steroid hormone-dependent cancer // Molec. Carcinogen. – 1998. – **21**, № 3. – P. 149-155.

48. Belyaev I.Ua., Alipov Ue.D., Matronchic A.Yu. Cell density dependent response of *E. coli* cells to weak ELF magnetic fields // Bioelectromagn. – 1998. – **19**, № 5. – P. 300-309.

49. Biological effects of electric and magnetic fields / Eds. O.D. Carpenter, S Aykapetyan. – San Diego: Academic Press, Inc., 1994. – Vol. **1**. – 369 p., Vol. **2**. – 357 p.

50. Eichwald C., Walleczek J. Activation depended and biphasic electromagnetic field effects: model bases on cooperative enzyme kinetics in cellular signaling // Bioelectromagn. – 1996. – **17**, № 6. – P. 427-435.

51. Kavaliers M., Choleris E., Prato F.S., Ossenkopp K. Evidence for the involvement of nitric oxide and nitric oxide synthase in the modulation of opioid-induced antinociception and inhibitory effects of exposure to 60 Hz magnetic fields in the land snail // Brain Research. – 1998. – **809**, № 1. – P. 50-57.

52. Loschinger M., Thumm S., Hammerle H., Rodemann H.P. Induction of intracellular calcium oscillations in human skin fibroblast population by sinusoidal extremely-low-frequency magnetic fields (20Hz – 8mT) is depended on differentiation state of the single cell // Rad. Reserch. – 1999. – **151**, № 2. – P. 195-200.

53. Michaelis J.P., Schuz J., Meinert R. et al. Childhood leukemia and electromagnetic fields: result of a population-based case-control study in Germany // Cancer Causes and Control. – 1997. – **8**, № 2. – P. 167-174.

54. Nafziger G., Devevey L., Tricottet V. et al. Investigation of the effects of 50Hz magnetic fields on purified human haemopoietic progenitors // Life Sci. – 1997. – **61**, № 19. – P. 1935-1946.

55. Shen Y.H., Shao B.J., Chiang H. et al. The effects of 50Hz magnetic fields exposure on dimethylbenz(alpha)anthracene induced thymic lymphoma/leukemia in mice // Bioelectromagn. – 1997. – **18**, № 5. – P. 360-364.

56. Simko M., Kriehuber R., Weiss D.G., Luben



R.A. Effects of 50Hz EMF exposure on micronucleus formation and apoptosis in transformed and nontransformed human cell in lines // Bioelectromagn. – 1998. – **19**, № 2. – P. 85-91.

57. Stenlung C., Floderus B. Occupational exposure to magnetic fields in relation to male breast cancer and testicular cancer: a Swedish case-control study // Cancer Causes and Control. – 1997. – **8**, № 2. – P. 184-191.

58. Tynes T., Hannevik M., Andersen A. et al. Incidence of breast cancer in Norwegian female radio

and telegraph operators // Cancer Causes and Control. – 1996. – **7**, № 2. – P. 97-204.

59. Verkasalo P.K., Pukkala E., Kaprio J. et al. Magnetic fields of high voltage power lines and risk of cancer in Finnish Adults: nationwide cohort study // BMJ. – 1996. – **313**, № 1064. – P. 1047-1057.

60. Wartenberg M., Heachelever J., Saner H. Electrical fields enhance growth of cancer spheroids by reactive oxygen species and intracellular  $Ca^{2+}$  // Amer. J. of Physiol. – 1997. – **272**, № 5. – P. 1677-1683.

## СЛАБЫЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫЕ ПОЛЯ И АДАПТАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ: ФАКТЫ И ТЕОРИИ

**Д.В. Каминский, А.П. Черкас, О.П. Елисеева, А.К. Куркевич, Я.И. Алексевич**  
ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

### Резюме

*В работе сделана попытка обобщения многочисленных данных о параметрах и эффектах слабых низкочастотных электромагнитных полей и механизмах их взаимодействия с биосистемой. Главное внимание сосредоточено на вопросах влияния на энергетический обмен, кислородзависимые процессы, адаптационные реакции. Анализ проведен с точки зрения новейших представлений об адаптационных процессах, информационном взаимодействии, роли свободнорадикальных реакций и больших возможностей практического применения в медицине.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** электромагнитные поля, механизмы взаимодействия, свободные радикалы, адаптационные процессы.

## WEAK ELECTROMAGNETIC FIELDS AND ADAPTIVE PROCESSES: FACTS AND THEORIES

**D.V. Kaminskiy, A.P. Cherkas, O.P. Yelisyeyeva, A.K. Kurkevich, Ya.I. Aleksevich**  
LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

### Summary

*In this article the attempt was made to summarize a significant amount of data regarding parameters and effects of weak low-frequency electromagnetic fields as well as their interaction with a biological system. The main focus is made on problems of the influence on energy exchange, oxygen-dependent processes, adaptive reactions. Analysis is conducted through a prism of newest ideas about adaptive processes, informational interaction and role of free-radical reactions as well as wider possibilities for practical implementation in medicine.*

**KEY WORDS:** electromagnetic fields, mechanisms of action, free radicals, adaptive processes.

Отримано 8.05.2001 р.

**Адреса для листування:** О.П. Єлісеєва, Львівський державний медичний університет ім. Д. Галицького, Центральна науково-дослідна лабораторія, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

## РОЛЬ ДАЛАРГІНУ В ПАТОГЕНЕТИЧНІЙ ТЕРАПІЇ СЕРЦЕВО-СУДИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

**Р.О. Сабадишин**

РІВНЕНСЬКИЙ БАЗОВИЙ МЕДИЧНИЙ КОЛЕДЖ

*Враховуючи ряд фармакологічних і терапевтичних властивостей даларгіну, порушення синтезу ендогенних простаноїдів при хронічній серцево-судинній недостатності (ХССН), можна зробити висновок, що препарат буде мати сприятливий вплив на показники ПОЛ, центральної і периферичної гемодинаміки в комплексному лікуванні хворих із ХССН.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** антиоксиданти, даларгін, опіоїдна система, хронічна серцево-судинна недостатність, перекисне окиснення ліпідів.

Протягом останніх 10-15 років на основі аналізу результатів великої кількості досліджень склалось уявлення про ендогенну опіоїдну систему, під якою розуміють сукупність ендогенних опіоїдних пептидів і їх рецепторів. Свою назву опіоїди отримали завдяки ефектам, що тією чи іншою мірою подібні на дію морфіну. Спочатку вважали, що ендогенні опіати відповідають тільки за реакції сприйняття і регуляції чутливості на біль в організмі. Пізніше було показано роль опіатів практично у всіх процесах життєдіяльності організму, зокрема в регуляції гомеостазу [39].

Останнім часом на основі ендогенних пептидів інтенсивно розробляють нові лікувальні препарати, застосування яких дозволяє впливати на перебіг захворювань завдяки регуляторній дії вказаних речовин.

У лабораторії синтезу пептидів ВКНЦ АМН СРСР (завідувач – проф. М.І. Титов) було синтезовано стабільний аналог ендогенного лей-енкефаліну – даларгін, який здатний із високим ступенем афінності взаємодіяти з  $\delta$ - і  $\mu$ -рецепторами. Від нативного енкефаліну даний пептид відрізняється наявністю D-аланіну й аргініну, в зв'язку з чим цей препарат отримав свою назву [9]. Введення в структуру препарату правообертального ізомеру аланіну підвищує його стійкість до дії ендопептидаз і перешкоджає проникненню через гематоенцефалічний бар'єр [2].

© Р.О. Сабадишин – д.м.н., проф., 2001.

При концентрації до 200 мкг/кг даларгін із сироватки крові людини повністю зникає через 15 хв, після цього концентрація його метаболітів залишається незмінною до 30 хв [27]. Продуктами перетворення препарату даларгіну є його кінцеві пента- і тетрапептиди, які, порівняно з попередником, мають меншу опіоїдну активність, але в 10 разів перевищують фізіологічну концентрацію енкефалінів плазми [2].

Відомо, що стимуляція  $\delta$ -рецепторів підвищує ударний та хвилинний об'єми крові (ХОК), пульсовий артеріальний тиск, знижує діастолічний АТ, загальний периферичний опір, перешкоджає впливу катехоламінів на периферичний кровообіг, зменшує їх вазоконстрикторний ефект [29]. Стимуляція  $\mu$ -рецепторів зменшує частоту серцевих скорочень, ХОК і викликає гіпотензію [7, 44].

Даларгін, введений перед розвитком стресу, викликав зниження стрес-індукованого рівня АКТГ і кортизолу в плазмі й цАМФ у надниркових залозах. При цьому рівень цАМФ у тимусі й показники функції гіпофізарно-тиреоїдного комплексу збільшувалися. Автори роблять висновок, що в механізмі антистресорних захисних реакцій даларгін здатний попереджувати неадекватну виснажливу гіперфункцію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи [36, 38, 39].

Результати аналізу даних літератури свідчать про те, що введення даларгіну знижує частоту розвитку ішемічних аритмій серця, включаючи фібриляцію шлуночків [23, 30, 31].

Антиаритмічний ефект опіювальних пептидів зумовлений, в основному, пригніченням периферичної дії катехоламінів [1]. Разом із тим, енкефаліни проявляють і центральну дію, змінюючи спонтанну і індуковану активність нейронів різних відділів центральної нервової системи, в тому числі й стовбура мозку, бульбарних серцево-судинних і дихальних центрів, які відіграють важливу роль у розвитку ішемічних аритмій серця [3, 14].

Під час проведення експериментальних досліджень було встановлено, що даларгін підвищує толерантність тварин до гіпоксії. Механізм дії препарату пов'язаний не тільки з його впливом на периферичну гемодинаміку, але, вірогідно, безпосереднім впливом на метаболічні процеси в ішемізованих тканинах [5, 32, 37, 43, 48].

Взаємодіючи з біологічними мембранами, даларгін змінює їх фізико-хімічні властивості, роблячи більш стійкими до переокисних радикалів. Інгібуючий ефект препарату стосовно до ПОЛ, вірогідно, зумовлений наявністю в його складі аргініну і тирозину, які мають антиоксидантні властивості [28]. Таким чином, даларгін може проявляти не тільки антирадикальну дію через гормональну, нервову системи і регуляцію циркулюючої крові, а й пряму дію на процеси вільнорадикального окиснення [2, 5]. Ряд авторів вказує на те, що антиокиснювальна дія препарату сильніша, ніж вітаміну Е [2, 8, 46].

Регуляція центральної і периферичної гемодинаміки опіювальними пептидами є однією з найважливіших ланок у спектрі їх біологічної дії. Периферична гемодинаміка на введення даларгину реагує збільшенням швидкості кровотоку в артеріолах, венах, артеріовенозних анастомозах і капілярах. На вени енкефаліни практично не впливають [16, 45]. Під впливом препарату проникність мікросудин не змінюється [15, 24, 46].

Даларгін проявляє антигіпоксичну й антиішемічну дію [5]. Розвиток ішемії та гіпоксії тканин є одним із найважливіших моментів патогенезу ХСН різного походження [10, 18, 35, 49]. Протигіпоксична дія підтверджується зниженням рівня лактату венозної крові хворої ноги після лікування даларгіном [15, 16, 22].

У патогенезі ХСН важлива роль належить гіперхолестеринемії і дисліпопротеїнемії [50]. Враховуючи той факт, що атеросклероз в основному викликає ІХС, позитивна фармакологічна дія препарату зумовлена його впливом на важливі патогенетичні ланки процесу [41, 46].

При вивченні даларгину в ряді наукових робіт вказано на його пульмопротекторну

дію [20, 21]. Препарат може бути одним із компонентів інтенсивної терапії. Постійна дозована інфузія даларгину покращує вентиляційно-перфузійні показники за рахунок активного впливу на транскапілярний обмін рідини в легенях.

Даларгін зменшує ступінь гідратації легень, покращує гемодинаміку і газообмін. Сприятливий вплив препарату на тонус судин малого кола кровообігу й оптимізація функціонування серця зменшують стрес-індукований набряк альвеолярно-капілярної мембрани, який, можливо, виникає в результаті затримки рідини в інтерстиціальному просторі [20, 21].

У літературі є дані, що даларгін при експериментальному інфаркті міокарда проявляє кардіопротекторну дію [13, 17, 25, 32, 33, 34]. У ряді експериментальних і клінічних робіт вказано, що препарат має гепато- і панкреатопротекторні властивості [11, 46].

На сьогодні даларгін широко використовують при лікуванні інфаркту міокарда [13, 25, 42]. Препарат нормалізує вміст катехоламінів, зменшує рівень цАМФ у кардіоміоцитах, протеаз, збільшує ресинтез глікогену в міокарді, тобто нормалізує процеси обміну, що обмежує зону пошкодження, нормалізує ритм серця і гемодинаміку, прискорює утворення рубця [1, 12, 29, 32, 33].

У післяреанімаційний період інфаркту міокарда даларгін також чинить нормалізуючий вплив на основні параметри гемодинаміки, попереджує токсичну дію на міокард надлишку катехоламінів, що характерно для післяреанімаційного періоду [14, 26]. Не виключено, що певне значення має зменшення ступеня післяреанімаційної гіповолемії, що зумовлено впливом препарату на водно-електролітний обмін [3].

У зв'язку з короткочасним кардіодепресивним ефектом даларгину, його необхідно вводити при інфаркті міокарда тільки в разі відносної стабілізації скоротливої функції лівого шлуночка [12, 13].

Для енкефалінів характерна здатність підвищувати тонус парасимпатичної нервової системи, що сприяє збільшенню електричної стабільності міокарда [44]. Холінергічний вплив даларгину на міокард може реалізуватися за допомогою двох можливих механізмів: по-перше, можливо, що даларгін, як і морфін, може проникати через гематоенцефалічний бар'єр і активувати ядра блукаючого нерва; по-друге, є дані про наявність дельта-опіатних рецепторів на аферентних волокнах вказаного нерва, активація яких призводить до збу-

дження парасимпатичних центрів стовбура мозку та, як наслідок, підвищення тону еферентних нервових волокон блукаючого нерва [7].

Як і інші опіюїдні пептиди, даларгін проявляє імуномодулювальну дію: пригнічує температурні реакції і скорочує ранню фазу запалення, активує моноклеарфагоцитарну систему і продукцію інтерлейкіну-1, нормалізує реакцію бласттрансформації лімфоцитів, але не впливає на перебіг реакції гіперчутливості сповільненого типу [4].

Противиразкова ефективність даларгіну проявляється вже в дозі 1 мкг/кг, максимальний ефект препарат має в дозі 10-15 мкг/кг, доза понад 125 мкг/кг викликає поступове зменшення противиразкової активності [6]. Феномен “вткання ефекту” при підвищенні оптимальної дози характерний для біологічно активних пептидів [2].

Слід відмітити, що на фоні лікування даларгіном не відбувається достовірних змін гематологічних і біохімічних показників крові, а також не виявлено відхилень базальних концентрацій пролактину, АКТГ, кортизолу, тироксину, альдостерону [29].

Таким чином, терапія нейропептидами – це спроба за допомогою екзогенного введення “власних” регуляторів вивести організм з патологічного стану, розірвати замкнуте коло патологічного процесу шляхом переведення регуляторних систем на інший рівень. Враховуючи ряд перерахованих фармакологічних і терапевтичних властивостей даларгіну, порушення синтезу ендогенних простаноїдів при ХСН [41], можна зробити висновок, що цей препарат буде мати сприятливий вплив на показники ПОЛ, центральної і периферичної гемодинаміки в комплексному лікуванні хворих із ХСН.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Алекминская А.А., Лишманов Ю.Б., Слепушкин В.Д. и др. Энкефалины и состояние симпатoadреналовой системы при острой ишемии миокарда // Кардиол. – 1987. – № 11. – С. 68-72.
2. Александрова В.А., Рычкова С.В. Даларгин. Фармакологические и клинические аспекты // Педиатр. – 1993. – № 3. – С. 101-104.
3. Андрюшкин В.Н., Руденко М.И., Залетов С.Ю. Даларгин – дополнительное средство защиты при хирургических операциях // Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз. симпоз. – М., 1991. – С. 4-6.
4. Бейко В.А., Васильченко Е.М. Влияние лей-энкефалина и его синтетического аналога на функциональную активность лимфоцитов // В кн.: Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии. – Томск, 1985. – С. 33-36.
5. Бриль Г.Е., Мартынов Л.А. К анализу рецепторных механизмов антигипоксического действия даларгина // Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз. симпоз. – М., 1991. – С. 59-60.
6. Булгаков С.А., Прописнова Е.П. Исследование пептидного препарата даларгина в лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // В кн.: Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии. – Томск, 1985. – С. 163-164.
7. Васильев С.В. Использование даларгина в качестве основного средства нейровегетативной защиты у больных с сопутствующей ишемической болезнью сердца в экстремальной анестезиологии // Применение малых регуляторных пептидов в

- анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз. симпоз. – М., 1991. – С. 52-53.
8. Васильев С.В. Механизм кардиопротекторного действия даларгина в неотложной анестезиологии у больных с сопутствующими сердечными заболеваниями: Дис. ... канд. мед. наук. – Новокузнецк, 1993. – 109 с.
9. Виноградов В.А., Булгаков С.А., Полянский В.М. Создание даларгина, история и этапы исследований // Актуальные вопросы гастроэнтерологии. – М., 1991. – С. 9-14.
10. Гельфгат Е.Б., Абдуллаев Й.А., Набиев Ф.С. Динамика кислородного режима кожи у больных ишемической болезнью сердца III-IV функционального класса под влиянием медикаментозного лечения // Кардиол. – 1992. – № 4. – С. 12-14.
11. Георгадзе А.К., Пермяков Н.К., Пенин В.А. и др. Даларгин в комплексном лечении острого панкреатита // XXXI Всесоюз. съезд хирургов: Тез. докл. – Ташкент, 1985. – С. 215-216.
12. Грабар Л.Е., Соколов О.В. Влияние даларгина на толерантность изолированного сердца крысы к необратимой нормотермической ишемии // Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз. симпоз. – М., 1991. – С. 94-96.
13. Гречкин В.И. Клинико-инструментальная оценка влияния даларгина на течение инфаркта миокарда: Дис. ... канд. мед. наук. – Воронеж, 1991. – 184 с.
14. Донич С.Г. Клинико-экспериментальное обоснование применения даларгина в анестезиологии: Дис. ... канд. мед. наук. – М., 1990. – 153 с.

15. Золоев Г.К., Поярнов В.Д. Энкефалины при облитерирующем атеросклерозе нижних конечностей // В кн.: Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии. – Томск, 1985. – С. 172-173.
16. Золоев Г.К., Шильников М.Г., Белоглазов М.Э. и др. Влияние даларгина на показатели кровонаполнения у больных с облитерирующими заболеваниями конечностей // Протезирование и протезостроение: Сб. тр. – М., 1991. – С. 34-38.
17. Иванов Г.Г., Ковтун В.В., Слепушкин В.Д. и др. Поздние потенциалы желудочков сердца и метод спектрального картирования для оценки действия даларгина в интенсивной терапии // Анестезиол. и реаниматол. – 1992. – № 5-6. – С. 45-47.
18. Иванов С.Н., Липовецкий Б.М. О нарушениях микроциркуляции и тканевой диффузии кислорода при гиперлипидемиях и ишемической болезни сердца // Физиол. чел. – **16**, № 2. – С. 154-166.
19. Использование функциональных классов в оценке больного с тяжелой сердечной недостаточностью // Кардиол. – 1992. – № 2. – С. 48-52.
20. Казеннов В.В. Клинико-инструментальное обоснование применения даларгина для профилактики нарушения транскапиллярного обмена жидкости в легких в раннем послеоперационном периоде: Дис. ... канд. мед. наук. – М., 1992. – 134 с.
21. Казеннов В.В., Солопова Г.В. Влияние синтетического аналога лей-энкефалина – даларгина на транскапиллярный обмен жидкости в легких // Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз. симпоз. – М., 1991. – С. 31-33.
22. Коробов Н.В. Даларгин – опиоидный пептид периферического действия // Фармакол. и токсикол. – 1988. – № 4. – С. 35-38.
23. Косицкий Г.И., Михайлова С.Д., Баблякова Н.Л. и др. Влияние даларгина на развитие ишемических аритмий сердца // Теорет., эксперим. и прикладные ис-ния биол. с-м: Респ. сб. науч. тр. – М., 1991. – С. 91-94.
24. Легеза В.И., Жиляев Е.Г., Кощев А.Г., Коновалова Л.И. Влияние даларгина на течение комбинированных радиационных поражений (экспериментальное исследование) // Военно-мед. журн. – 1993. – № 5. – С. 19-21.
25. Лисаченко Г.В., Слепушкин В.Д., Золоев Г.К. Влияние даларгина на гемодинамику при остром инфаркте миокарда, осложненном клинической смертью // Анестезиол. и реаниматол. – 1992. – № 14. – С. 57-59.
26. Лихванцев В.В. Интраоперационная органопротекция как необходимый компонент сбалансированной анестезии: Дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1990. – 299 с.
27. Лихванцев В.В., Смирнова В.И., Дониц С.Г. и др. Исследование защитных свойств даларгина в эксперименте и клинике // Специализированная медицинская помощь в экстремальных ситуациях: Тез. докл. – М., 1990. – С. 131-132.
28. Львова С.П., Горбунова Т.В., Абаева Е.М. Влияние гипотермии и даларгина на перекисное окисление липидов в тканях крыс // Вопр. мед. химии. – 1993. – **39**, № 3. – С. 21-24.
29. Мартынова Е.Р. Изучение механизмов действия опиоидных пептидов на сердечно-сосудистую систему: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 1988. – 25 с.
30. Маслов Л.Н., Лишманов Ю.Б. К механизму антиаритмического действия даларгина при экспериментальной ишемии миокарда // Эксперим. и клин. фармакол. – 1992. – **55**, № 2. – С. 25-28.
31. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., Белкина Л.М. и др. Антиаритмическое действие стресс-лимитирующих факторов даларгина и феназепамы // Хим.-фарм. журн. – 1989. – **23**, № 9. – С. 1034-1038.
32. Михайлова С.Д., Сторожаков Г.И., Бебякова Н.А. и др. Механизм действия даларгина при экспериментальной ишемии миокарда // Бюл. эксперим. биол. – 1992. – **114**, № 10. – С. 345-347.
33. Павленко В.С., Хлыстов В.В., Усынин А.Ф. Нейропептиды в патогенезе инфаркта миокарда // В кн.: Механизмы патологических реакций. – Томск, 1986. – Т. 4. – С. 89-91.
34. Павленко В.С., Хлыстов В.В., Усынин А.Ф., Слепушкин В.Д. Сравнительное изучение действия даларгина и обзидана на течение острого инфаркта миокарда в эксперименте // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1998. – № 6. – С. 13-15.
35. Палеев Н.Р., Мравян С.Р., Гуревич М.А., Одиноква В.А. Неотложные состояния при дилатационной кардиомиопатии и миокардите // Кардиол. – 1992. – **11**, № 12. – С. 107-109.
36. Пашутин С.Б. Ограничение адренергического повреждения сердечно-сосудистой системы с помощью экзогенной инфузии регуляторного пептида даларгина // Кардиол. – 1992. – **32**, № 3. – С. 56-58.
37. Пашутин С.Б. Ограничение гемодинамических нарушений при острой гипоксии и реоксигенации *in situ* с помощью синтетического пептидного биорегулятора даларгина // Бюл. эксперим. биол. – 1991. – **112**, № 11. – С. 505-507.
38. Пашутин С.Б. Стресс-ингибирующие свойства даларгина при различных критических состояниях в эксперименте // Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз. симпоз. – М., 1991. – С. 36-37.
39. Слепушкин В.Д., Золоев Г.К. Роль нейропептидов в механизмах развития стресса и шока // В кн.: Механизмы патологических реакций. – Томск, 1986. – Т. 4. – С. 116.
40. Смагин В.Г., Виноградов В.А., Булгаков С.А. Лиганды опиатных рецепторов. – М.: Наука, 1983. – 217 с.
41. Смирнов И.Е., Абдувахобов А.И., Сербин В.И., Мажитова З.Х. Эндогенные простаноиды при хронической сердечной недостаточности // Актуальные проблемы современной терапии: Сб. науч. тр. – Харьков, 1992. – С. 135-137.
42. Соколов О.В. Усиление кардиопротекторного свойства гиперкалиевого кардиоплегического раствора введением в его состав синтетического аналога лей-энкефалина даларгина // Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз.

симпоз. – М., 1991. – С. 104-106.

43. Соколов Г.Е., Слепушкин В.Д., Савицкий Г.Г. и др. Противоишемическое действие нового отечественного препарата даларгина // Военно-мед. журн. – 1989. – № 6. – С. 20-22.

44. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экспериментальных воздействиях // Вопр. мед. химии. – 1988. – № 6. – С. 2-11.

45. Федорова Н.А. Функциональные нагрузочные пробы в оценке эффективности рокорнала и даларгина при лечении больных атеросклерозом коронарных и периферических артерий: Дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 1992. – 157 с.

46. Фомченков Е.П., Вишневский В.А., Смирнова В.И. Влияние даларгина на некоторые метаболические показатели больных, оперированных

на печени // Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии: Мат. Всесоюз. симпоз. – М., 1991. – С. 45-46.

47. Хугаев В.К., Сучков В.В. Влияние энкефалинов на микроциркуляторное русло // Бюл. ВКНЦ АМН СССР. – 1981. – № 1. – С. 92-96.

48. Шамкулашвили Г.Г., Думбадзе Г.Г., Мчедlishvili Т.В. и др. Влияние даларгина на энергообеспечение сократительной функции сердца при острой кровопотере // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1991. – № 1. – С. 11-12.

49. Яременко О.Б. Кислородное обеспечение организма больных инфарктом миокарда при прогрессирующих формах острой недостаточности кровообращения // Врач. дело. – 1990. – № 8. – С. 4-7.

50. Katz A.M. Metabolism of the failing heart // Cardioscience. – 1993. – 4, № 4. – P. 199-203.

## РОЛЬ ДАЛАРГИНА В ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**Р.А. Сабадышин**

РОВЕНСКИЙ БАЗОВЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЛЕДЖ

### Резюме

Учитывая ряд фармакологических и терапевтических свойств даларгина, нарушения синтеза эндогенных простаноидов при хронической сердечно-сосудистой недостаточности (ХССН), можно сделать вывод, что препарат будет иметь благоприятное влияние на показатели ПОЛ, центральной и периферической гемодинамики в комплексном лечении больных с ХССН.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **антиоксиданты, даларгин, опиоидная система, хроническая сердечно-сосудистая недостаточность, перекисное окисление липидов.**

## THE ROLE OF DALARGINE IN THE PATHOGENETIC THERAPY OF CARDIOVASCULAR DISEASES

**R.A. Sabadyshyn**

RIVNE BASIC MEDICAL COLLEGE

### Summary

Taking into consideration the pharmacologic and therapeutic dalargine properties, disturbances of synthesis of endogenous prostenoids at chronic cardiovascular insufficiency this medicine was shown to have a favorable influence on lipid peroxidation indices of central and peripheral hemodynamics in the complex treatment of patients with chronic cardiovascular insufficiency .

KEY WORDS: **antioxidants, dalargine, opioid system, chronic cardiovascular insufficiency, peroxidation.**

Отримано 13.03.2001 р.

Адреса для листування: Р.О. Сабадышин, Рівненський базовий медичний коледж, вул. Мірющенка, 53, 33000, Рівне, Україна.

## ІОНООБМІННА ХРОМАТОГРАФІЯ БІЛКІВ КАЗЕЇНОВОГО КОМПЛЕКСУ В ОБ'ЄМІ

В.Г. Юкало

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І. ПУЛЮЯ

*Запропоновано метод виділення  $\alpha_{s1}$ - й  $\alpha_{s2}$ -казеїнів із коров'ячого молока з використанням іонообмінної хроматографії на ДЕАЕ-целюлозі в об'ємі. Метод має ряд переваг порівняно з традиційними способами фракціонування білків казеїнового комплексу. Він простий у виконанні й не потребує великих затрат часу. Вихід електрофоретично чистих фракцій  $\alpha_{s1}$ - і  $\alpha_{s2}$ -казеїнів складає близько 57 і 70 %.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА:  $\alpha_{s1}$ - й  $\alpha_{s2}$ -казеїни, іонообмінна хроматографія.

ВСТУП. Згідно із сучасними уявленнями, білки казеїнового комплексу коров'ячого молока включають чотири основні фракції, що відрізняються за первинною структурою. Це  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - і  $\kappa$ -казеїни. Крім того,  $\alpha_{s1}$ - й  $\alpha_{s2}$ -казеїни можуть існувати у вигляді мінорних компонентів, що містять різну кількість фосфосеринових залишків [7]. При виділенні фізіологічно активних пептидів у результаті протеолізу казеїнів, моделюванні процесів протеолізу білків молока виникає необхідність у використанні індивідуальних фракцій казеїну [3, 8].

Існуючі методи розділення білків казеїнового комплексу базуються на диференційному осадженні казеїнів за допомогою різних концентрацій сечовини, солей кальцію, етилового спирту. Одержані препарати доочищують методами іонообмінної хроматографії ( $\alpha_s$ - і  $\beta$ -казеїни) або гель-фільтрації ( $\kappa$ -казеїни) [2, 9]. Реалізація цих методів на практиці вимагає великих затрат часу, значної кількості реактивів і складного обладнання. Сучасні методи швидкої рідинної хроматографії білків застосовуються, в основному, при проведенні аналітичних досліджень казеїнів і не дають можливості одержати значну кількість очищених фракцій [6]. Слід відзначити, що при використанні методів колонкової хроматографії казеїнів виникають труднощі під час виділення  $\alpha_{s2}$ -казеїнів, властивості яких подібні до властивостей  $\alpha_{s1}$ -казеїнів і які становлять лише близько 10 % у складі загального казеїну [5, 6].

Метою даної роботи є виділення електрофоретично чистих фракцій  $\alpha_{s1}$ - й  $\alpha_{s2}$ -казеїнів коров'ячого молока.

© В.Г. Юкало – к.б.н., 2001.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Загальний казеїн коров'ячого молока виділяли без застосування екстремальних значень рН та іонної сили, як описано раніше [2]. Одержаний препарат загального казеїну в розчині осаджували при підкисленні до рН=4,0 за допомогою 1 М оцтової кислоти й екстрагували протягом 5 годин при температурі 4 °С. При цьому інактивуються і відділяються від казеїнів природні протеази молока. Преципітат загального казеїну після екстракції тричі промивали дистильованою водою і розчиняли при значеннях рН, що не перевищували 7,5. Після цього препарат ліофільно висушували.

Аналіз фракційного складу і гомогенність препаратів  $\alpha_s$ -казеїнів на різних стадіях виділення проводили за допомогою електрофорезу на вертикальних пластинках поліакриламідного гелю в апараті Стадієра. При цьому використовували лужну буферну систему гелю (рН=7,9), що включала 0,025 М тріс, 0,027 М діетилбарбітурат, 0,003 М ЕДТА і 4,5 М сечовину. В комірку вносили по 10 мкл розчину казеїнів. Після електрофорезу пластинки фіксували в 7 % розчині оцтової кислоти і забарвлювали в 1 % розчині амідочорного 10 Б [4].

Фракціонування казеїнів у об'ємі проводили на ДЕАЕ-целюлозі (ДЕАЕ-52, Serva). Для порівняння казеїни фракціонували методом іонообмінної хроматографії на колонках Reanal (2×30 см). Умови іонообмінної хроматографії на колонці з ДЕАЕ-целюлозою подібні до умов, описаних у роботі [2].

Концентрацію фракцій казеїну визначали за поглинанням при довжині хвилі 280 нм на спектрофотометрі СФ-46. При цьому викорис-

товували встановлені раніше коефіцієнти поглинання ( $D_{1\text{см}}^{1\%}$ ): 10,0 – для  $\alpha_{s1}$ -казеїну; 4,6 – для  $\beta$ -казеїну; 9,6 – для  $\kappa$ -казеїну; 10,1 – для  $\alpha_{s2}$ -казеїну і 8,2 – для загального казеїну.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Препаративне фракціонування загального казеїну в об'ємі на ДЕАЕ-целюлозі проводили з використанням 0,02 М ацетатного буфера (рН – 6,45), що включав 3,3 М сечовину, 0,03 М ЕДТА і 0,01 М 2-меркаптоетанол. Буфери подібного складу, але з більшим значенням рН (до 8), застосовують в аніонообмінній хроматографії казеїнів. Такий буфер протидіє вираженій властивості казеїнів утворювати агрегати в розчинах при природних значеннях рН, а також утворенню дисульфідних зв'язків між молекулами  $\alpha_{s2}$ - і  $\kappa$ -казеїнів, які містять залишки цистеїну. Включення ЕДТА необ-

хідне для зв'язування іонів  $\text{Ca}^{2+}$ , що входять до складу казеїнових міцел і можуть впливати на процес зв'язування кальцію іонообмінником.

ДЕАЕ-целюлозу після стандартної обробки зрівноважували з описаним буфером і змішували з препаратом ліофілізованого загального казеїну, розчиненого в цьому ж буфері. Після обережного перемішування (25 хв, 10 °С) суміш фільтрували. Таку процедуру із залишком іонообмінника на фільтрі повторювали двічі з новими порціями буфера. Три фільтрати, одержані з буфером одного складу, об'єднували. В подальшому залишок іонообмінника інкубували так само, як буфер, що включав концентрації  $\text{CaCl}_2$ , які ступінчасто зростали, і не містив ЕДТА. Стадії процесу фракціонування загального казеїну в об'ємі на ДЕАЕ-целюлозі й співвідношення компонентів показано на схемі 1.

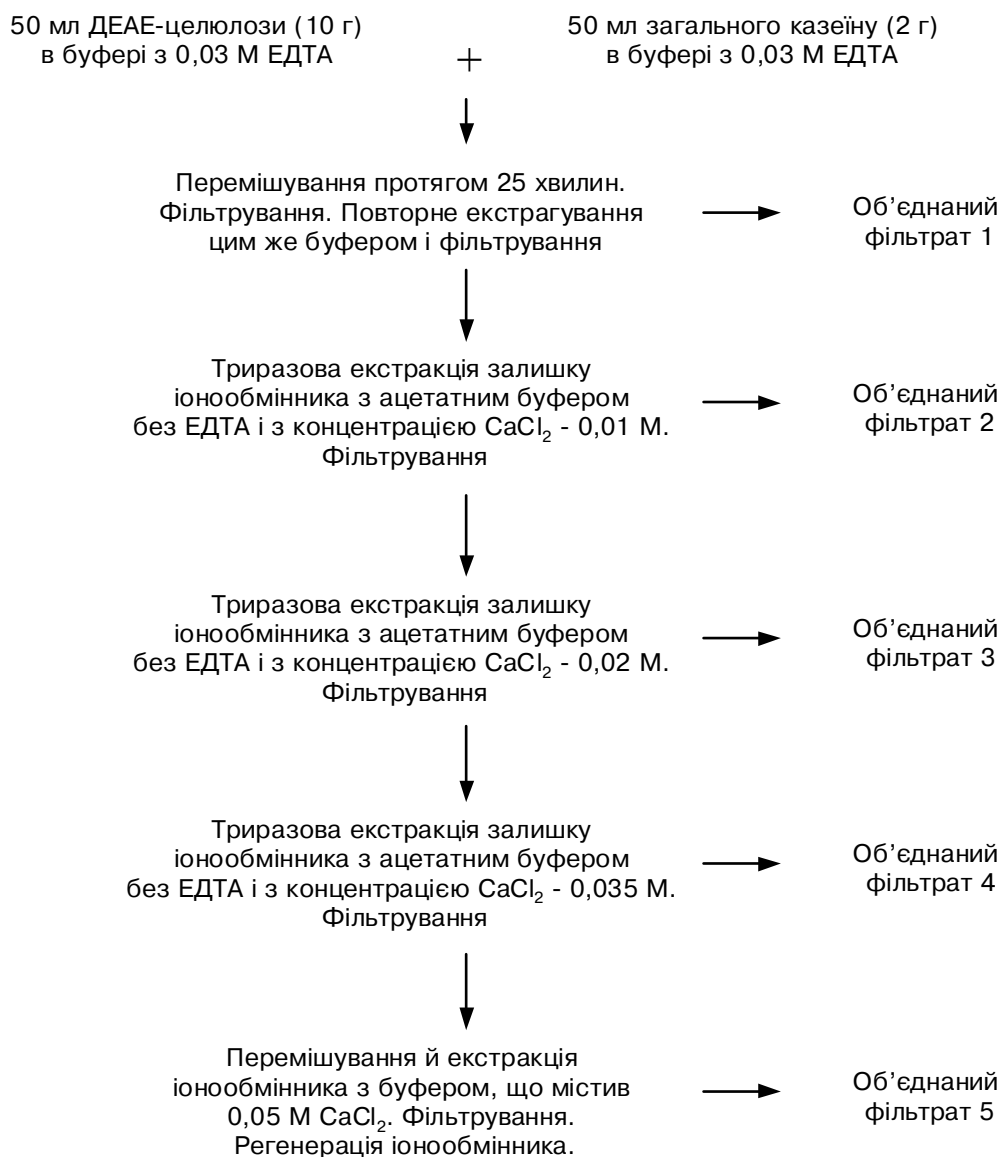
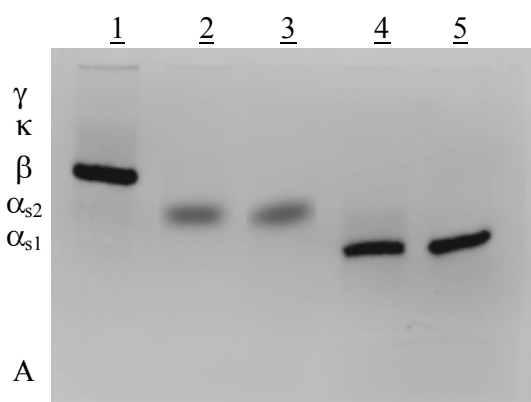


Схема 1. Стадії процесу фракціонування загального казеїну в об'ємі на ДЕАЕ-целюлозі.



В об'єднаних фільтратах визначали вміст білків, діалізували і ліофільно висушували їх. Фракційний склад казеїнів кожного фільтрату аналізували методом електрофорезу в поліакриламідному гелі. Електрофореграми білків фільтратів показано на рисунку 1А.

Цифри над гелем відповідають номеру фільтрату після екстракції іонообмінника відповідним буфером. Для порівняння наведено електрофореграму (рис. 1Б) препарату загального казеїну (1),  $\alpha_{s1}$ - і  $\beta$ -казеїнів після диференційного осадження при різних концентраціях сечовини (2 і 4), а також  $\alpha_{s1}$ - і  $\beta$ -казеїнів після очищення на колонці з ДЕАЕ-целюлозою [2].



Аналіз білкового складу фільтратів, одержаних при фракціонуванні загального казеїну в об'ємі на ДЕАЕ-целюлозі, показує, що фільтрат 1 включає з головних фракцій  $\kappa$ - і  $\beta$ -казеїни, а також продукти розпаду  $\beta$ -казеїну –  $\gamma$ -казеїни. Фільтрати 2 і 3 складаються з  $\alpha_{s2}$ -казеїнів. Фільтрат 4 містить суміш  $\alpha_{s1}$ - й  $\alpha_{s2}$ -казеїнів. Фільтрат 5 включає тільки  $\alpha_{s1}$ -казеїн. Причому і  $\alpha_{s2}$ - й  $\alpha_{s1}$ -казеїни у фільтратах 2, 3 і 5 електрофоретично чисті. Разом із тим, препарат  $\alpha_{s1}$ -казеїну після диференційного осадження й іонообмінної хроматографії на колонці з ДЕАЕ-целюлозою містить домішки  $\alpha_{s2}$ -казеїнів (рис. 1Б (3)).

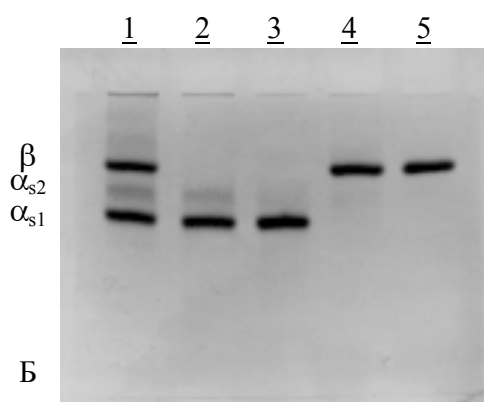


Рис. 1. Електрофореграми білків фільтратів.

Акуратне виконання фракціонування казеїнів в об'ємі забезпечує вихід у складі гомогенних фракцій близько 70 %  $\alpha_{s2}$ -казеїнів і близько 57 %  $\alpha_{s1}$ -казеїнів. Фільтрати 1 і 4 можна використати для подальшого очищення і виділення  $\kappa$ -,  $\beta$ - й  $\alpha_{s1}$ -казеїнів. Слід відмітити, що екстракцію іонообмінника у відповідному буфері достатньо проводити впродовж 25, а не 60 хвилин, як відзначено в літературі [1]. Після 25 хв екстракції кон-

центрація білків у надосадовій рідині практично не змінюється.

**ВИСНОВОК.** Запропоновано метод фракціонування білків казеїнового комплексу коров'ячого молока на ДЕАЕ-целюлозі в об'ємі, який дозволяє виділити гомогенні  $\alpha_{s1}$ - й  $\alpha_{s2}$ -казеїни. Вихід електрофоретично чистих фракцій  $\alpha_{s1}$ - і  $\alpha_{s2}$ -казеїнів при фракціонуванні на ДЕАЕ-целюлозі в об'ємі становить, відповідно, близько 57 і 70 %.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. – М.: Наука, 1985. – 536 с.
2. Юкало В.Г., Луговой Б.Л. Характеристика методів препаративного виділення  $\beta$ -казеїну // Експерим. та клін. фізіол. та біохім. – 1998. – № 3-4. – С. 27-29.
3. Юкало В.Г., Луговой Б.Л. Утворення антигіпертензивних пептидів при модельному протеолізі  $\beta$ -казеїну // Фізіол. журн. – 2000. – № 3. – С. 78-83.
4. Юкало В.Г. Електрофорез білків молока // Мед. хім. – 2000. – 2, № 4. – С. 79-82.
5. Christensen T.M.E., Munksgaard. Quantitative fractionation of casein by precipitation or ion exchange chromatography // Milchwissenschaft. – 1989. – 44,

№ 8. – P. 480-484.

6. Davies D.T., Law J.R. Quantitative fractionation of casein mixture by fast protein liquid chromatography // J. Dairy. Res. – 1987. – 54, № 3. – P. 369-376.

7. Eigel W.N., Butler J.E., Ernstrom C.A. et al. Nomenclature of Proteins of cow's milk: Fifth Revision // J. Dairy Sci. – 1984. – 64, № 8 – P. 1599-1631.

8. Fiat A.M., Miglior-Samour D., Jolles P et al. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities // J. Dairy Sci. – 1993. – 76, № 1. – P. 301-310.

9. Ribadeau-Dumas B., Grappin R. Milk protein analysis // Lait. – 1989. – 69, № 5. – P. 357-416.

# ИОНООБМЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ БЕЛКОВ КАЗЕИНОВОГО КОМПЛЕКСА В ОБЪЕМЕ

В.Г. Юкало

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И. ПУЛЮЯ

## Резюме

Предложен метод выделения  $\alpha_{s1}$ - и  $\alpha_{s2}$ -казеинов из коровьего молока с использованием ионообменной хроматографии на DEAE – целлюлозе в объеме. Метод имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными способами фракционирования белков казеинового комплекса. Он прост в исполнении и не требует больших затрат времени. Выход электрофоретически чистых фракций  $\alpha_{s1}$ - и  $\alpha_{s2}$ -казеинов составляет, соответственно, около 57 и 70 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:  $\alpha_{s1}$ - и  $\alpha_{s2}$ -казеины, ионообменная хроматография.

# ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY OF CASEIN COMPLEX PROTEINS BY BATCH PROCEDURE

V.G. Yukalo

TERNOPIL STATE TECHNICAL UNIVERSITY BY I. PULUY

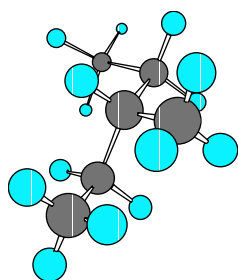
## Summary

Method of obtaining  $\alpha_{s1}$ - and  $\alpha_{s2}$ -caseins from cow milk with the help of batch fractionation on DEAE-cellulose have been proposed. The method has some preferences compared with the traditional approaches of the fractionation of casein protein complex. It is simple and quick in use. The recovery of electrophoretically pure fractions of  $\alpha_{s1}$ - and  $\alpha_{s2}$ -casein was 57 and 70 % respectively.

KEY WORDS:  $\alpha_{s1}$ - and  $\alpha_{s2}$ -casein, ion exchange chromatography.

Отримано 11.07.2001 р.

Адреса для листування: В.Г. Юкало, кафедра харчової біотехнології і хімії, Тернопільський державний технічний університет ім. І. Пулюя, вул. Руська, 56, Тернопіль, 46001, Україна.



## ВИДАВНИЦТВО “УКРМЕДКНИГА” Підручник “Біологічна хімія” Автор – член-кор. АМН України, д.м.н., проф. Губський Ю.І.

Пропонується сучасний тип підручника для вищих медичних навчальних закладів на базі багаторічного досвіду викладання на кафедрі біоорганічної та біологічної хімії Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця.

Основа структури підручника – викладення сучасного стану питань, що стосуються будови, біологічних функцій та біосинтезу основних класів біомакромолекул – білків та нуклеїнових кислот, основ ензимології, біоенергетики, мембранології, молекулярної генетики, механізмів та взаємозв'язку обміну різних класів біомолекул, закономірностей їх регуляції фізіологічно активними сполуками – внутрішньоклітинними месенджерами та гормонами, багато з яких застосовуються в сучасній клінічній практиці як ефективні лікарські засоби нового покоління (антибіотики, інсулін, стероїди, інтерферон тощо).

Рекомендовано МОЗ України для студентів вищих медичних закладів освіти III-IV рівнів акредитації.

Об'єм підручника 600 сторінок.

**Підручник можна замовити за адресою:  
Видавництво “Укрмедкнига”, майдан Волі, 1, м.Тернопіль, 46001  
тел./факс (0352)22-80-09; тел. 22-97-29**

## СВІТЛІЙ ПАМ'ЯТІ ПРОФ. Г.О. БАБЕНКА

## TO THE MEMORY OF PROF. H.O. VABENKO

30 жовтня 2001 року невідомою смертю забрала з життя талановитого вченого-новатора, лікаря з добрим серцем, поетичним хистом, полум'яного патріота України, академіка Української академії наук національного прогресу, заслуженого діяча науки і техніки України, доктора медичних наук, професора Бабенка Георгія Овксентійовича.

Народився Георгій Овксентійович у 1921 році в селі Новоселиці Катеринопільського району на Черкащині у родині сільських учителів. Після закінчення середньої школи в 1939 році Георгія Овксентійовича призвано на дійсну військову службу. В часи війни на важких партизанських стежках поборював коричневу фашистську тиранію, за що нагороджений численними орденами і медалями.

У важкі роки повоєнного лихоліття навчався в Донецькому медичному інституті. Кандидатську дисертацію "Мікроелементи головного мозку людини і тварини" тоді аспірант Г. Бабенко захистив у 1953 році, а через рік був скерований до міста Станіслава (тепер Івано-Франківськ) на посаду ректора медичного інституту.

Одночасно з ректорством Георгій Овксентійович отримав кафедру медичної хімії, працюючи на ній, підготував надзвичайно важливу для теоретичної і практичної медицини наукову працю "Іонізуюче випромінювання і мікроелементи", за яку в 1962 році здобув науковий ступінь доктора медичних наук. У 1963 році Г.О. Бабенко став професором, у 1968-му отримав звання заслуженого діяча науки України.

Георгій Овксентійович організував проблемну лабораторію з біохімії, яку він назвав "Мікроелементи в медицині". Усього в цій лабораторії виконано понад 100 докторських і кандидатських дисертацій. Одна за одною оформлялись заявки на винаходи та раціоналізаторські пропозиції – їх понад 40. Започатковані Г.О. Бабенком щорічні збірники наукових праць "Мікроелементи в медицині" (сім томів) стали настільними книгами для молодих науковців та студентів-медиків.

Професор Г.О. Бабенко – автор понад 500 наукових праць, 5 монографій, 10 художніх творів.

Чимало учнів Георгія Овксентійовича стали відомими вченими-біохіміками, вченими-клі-



ністами, практичними лікарями. Серед них такі постаті, як академік АМН України Є.М. Нейко, професори В.В. Дельва, Я.І. Гонський, М.М. Ковтуняк, Т.В. Шлопак, Л.П. Решоткіна, Н.І. Гуде, П.М. Вакалюк, Ф.П. Ольгіна, І.П. Ванжура, А.О. Клименко, Р.П. Волосянко, В.М. Витвицький, С.М. Генік, І.А. Голотюк, І.І. Гудивок, І.В. Мазепа, М.І. Шкроміда, А.П. Юрцева, В.Є. Ткач, М.А. Мазепа

Упродовж останнього десятиріччя Георгій Овксентійович, не полишаючи проблеми канцерогенезу, активно займався не менш актуальним питанням цукрового діабету, туберкульозу, атеросклерозу, променевої хвороби. З його ініціативи створено лабораторію синтезу мікроелементних лікувальних препаратів і запропоновано низку препаратів з біотичними дозами мікроелементів. Ґрунтовно займався Г.О. Бабенко і проблемами екології та антропогенного забруднення довкілля. Власне ці дослідження узагальнені ним в останній енциклопедичній монографії "Біосфера і антропогенез".

Окрім великих досягнень на науковій та педагогічній нивах, Г.О. Бабенко був також добрим публіцистом. Його гостросюжетні статті спрямовані на розвиток української медичної науки, вони пронизані любов'ю до України, тривогою за її майбуття.

Редакційна колегія журналу "Медична хімія" сумує з приводу смерті члена редколегії і висловлює свої щирі співчуття родині та близьким покійного.

*Редколегія журналу "Медична хімія"*

## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ

1. Стаття повинна мати відношення установи з рекомендацією до друку та підписом керівника установи і експертний висновок про можливість відкритої публікації, які завірені печаткою. Під текстом статті обов'язкові підписи всіх авторів та наукового керівника роботи. Особливо необхідно вказати науковий ступінь і вчене звання кожного автора, а також прізвище, ім'я, по батькові, адресу, телефон і факс автора, з яким можна вести листування і переговори.

2. Статтю треба друкувати на одному боці аркуша формату А4 (210×297 мм), 1800–2000 друкованих знаків на сторінці, українською мовою. Надсилати необхідно 2 примірники статті.

3. Обсяг оригінальної статті, включаючи таблиці, рисунки, список літератури, резюме, не повинен перевищувати 8 сторінок, обсяг проблемної статті, огляду літератури, лекції – 12 сторінок, короткого повідомлення, рецензії – 5 сторінок.

4. Матеріал необхідно готувати на комп'ютері за стандартом IBM. Електронний варіант статті надсилати на дискеті 3,5". Текст треба набирати у програмі WORD 6,0 або будь-якої вищої версії, рисунки готувати у форматах JPG, TIF, CDR. Для формул бажано використовувати вбудований у WORD редактор формул.

5. Статті треба писати за такою схемою: УДК, назва роботи (великими літерами), ініціали і прізвища авторів, повна назва установи (великими літерами), резюме українською мовою, ключові слова українською мовою, вступ, методи дослідження, результати й обговорення, висновки, література, назва статті російською мовою (великими літерами), ініціали і прізвища авторів російською мовою, повна назва установи російською мовою (великими літерами), резюме російською мовою, ключові слова російською мовою, назва статті англійською мовою (великими літерами), ініціали і прізвища авторів англійською мовою, повна назва установи англійською мовою (великими літерами), резюме англійською мовою, ключові слова англійською мовою.

6. Ілюстрації до статті (діаграми, графіки, фотографії) треба надсилати у двох примірниках. На звороті кожної ілюстрації необхідно вказати номер, прізвища авторів і відмітки "Верх", "Низ". У підписах до мікрофотографій вказувати збільшення і метод фарбування матеріалу. Фотографії повинні бути контрастними, рисунки – чіткими. Таблиці повинні мати короткі заголовки і власну нумерацію. Відтворення одного і того ж матеріалу у вигляді таблиці і рисунків не допускається.

7. Усі позначення мір (одиниці різних величин, цифрові дані клінічних і лабораторних досліджень) необхідно подавати відповідно до міжнародної системи одиниць (СІ) згідно вимог групи стандартів ДСТУ 3651-97 "Одиниці фізичних величин". Назви фірм, реактивів і препаратів наводити в оригінальній транскрипції.

8. В описі експериментальних досліджень слід вказувати вид, стать, кількість тварин, методи анестезії при маніпуляціях, пов'язаних із завданням тваринам болю, метод умертвіння їх. Обов'язковою умовою є гуманне ставлення до тварин при проведенні експериментів.

9. У тексті статті при посиланні на публікацію слід зазначити її номер згідно списку літератури у квадратних дужках.

10. До статті додається список літератури, надрукований на окремому аркуші. Джерела друкують за алфавітом.

### **Приклади бібліографічних посилань.**

– посилання на книги:

1. Маркова О.О. Міокардіодистрофія і реактивність організму. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 150 с.

Якщо кількість авторів книги, статті, тез доповідей п'ять і більше, то подавати належить лише три прізвища з наступним "та ін.", "и др.", "et al."

2. Петров Г.В., Хантов Р.М., Манько В.М. и др. Контроль и регуляция иммунного ответа. – М.: Медицина, 1981. – 311 с.

3. Руководство по психиатрии / Под. ред. А.В.Снежневского. – М.: Медицина, 1983. – Т. 2. – 543 с.

4. Hobbiger F. Reactivation of phosphorylated acetylcholinesterase. – Berlin: Springer, 1963. – 988 p.

5. The peptides. Analysis, synthesis, biology / Ed. by S. Udenfriend. – New York: Acad. Press, 1984. – 410 p.

Перекладні видання:

6. Гроссе Э., Вайсмангель Х. Химия для любознательных: Пер. с нем. – М.: Химия, 1980. – 392 с.

– посилання на статті:

1. Андрійчук Т.Р., Верхогляд І.М., Цудзевич Б.О. Са<sup>2+</sup>-фосфоліпідзалежна протеїнкіназа печінки шурів; фізико хімічні властивості і кінетичні параметри // Укр. біохим. журн. – 1990. – 62, № 2. – С. 90 – 92.

2. Фролов В.М., Пересадин Н.А., Высоцкий И.Ю. и др. Иммуномодулирующий эффект вилозена и спленина при лечении больных острым и хроническим токсико-аллергическим гепатитом // Лік. справа. – 1993. – № 5-6. – С. 70-72.

3. Chisari F.V. Regulation of human lymphocyte function by a soluble extract from normal human liver // J. Immunol. - 1978. – 121, № 4. – P. 1279-1286.

– посилання на доповіді, тези доповідей:

1. Вальовка Т.Й., Великий М.М., Коробов В.М. Функціональні характеристики мембраноз'язаного гемоглобіну // VII Український біохімічний з'їзд: Тези доп. – Київ, 1997. – С. 135.

2. Sada A., Petillo O., Cara F. et al. The role of tissue transglutaminase in cellular morphology and adhesion // 24-th Meeting of FEBS: Abstracts. – Barcelona, 1996. – P. 121.

– посилання на патенти, авторські свідоцтва:

1. А.с. 1007970 СССР, МКИ В 25 G 15/00. Устройство для захвата неориентированных деталей / В.С.Батулин, В.Г.Кемайкин. – Опубл. 30.08.81. – Бюл. № 12. – 2 с.

2. Пат. 4601552 США, МКИ G 03 B 27/74. Microfilming system with zone controlled adaptive lighting / Wise David S. (США). – Опубл. 22.06.86. – НКИ 355/68. – 3 с.

– посилання на дисертації і автореферати дисертацій:

1. Кияшко А.О. Влияние антиоксидантов на состояние клеточных мембран и обмен белка при ожоговой болезни: Дис. ... д-ра мед. наук. – Тернополь, 1983. – 280 с.

2. Фіра Л.С. Активність мембранозалежних ферментів при опіковій хворобі: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Львів, 1987. – 16 с.

11. Редакція виправляє термінологічні та стилістичні помилки, усуває зайві ілюстрації, при потребі скорочує текст.

12. Статті, оформлені без дотримання наведених правил, не реєструються. У першу чергу друкуються статті передплатників журналу, а також матеріали, що замовлені редакцією.

13. Автор несе повну відповідальність за достовірність даних, наведених в статті і у списку літератури.

14. Публікація статей платна. Вартість – 10 грн. за 2000 знаків. Оплата здійснюється після рецензування статті.

15. Статті треба відсилати за адресою: Редакція журналу "Медична хімія", видавництво "Укрмедкнига", медична академія, Майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.