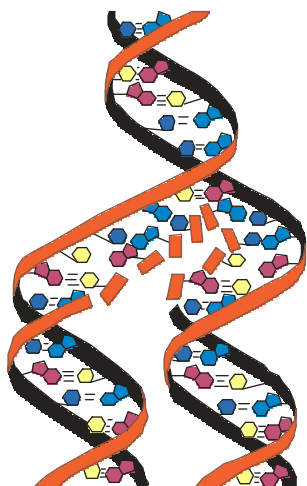


Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук національного прогресу

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

4 TOM 4
2002

SCIENTIFIC JOURNAL

- ❖ *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 КВ № 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
<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

ПЕРЕДОВА СТАТТЯ

Запорожан В.М., Гоженко А.І., Онищенко О.О.,
Жуган Е.Л. (Одеса) ЛЕПТИН І ЙОГО РОЛЬ У
РЕГУЛЯЦІЇ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ГОМЕОСТАЗУ 5

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Козицький З.Я., Кучмеровська Т.М., Великий М.М.,
Шиманський І.О., Кучмеровський М.О. (Львів,
Київ) ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ЗА ПЕРИФЕРИЧНОЇ
ДІАБЕТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ: ЕФЕКТ НІКОТИНА-
МІДУ ТА ІНГІБІТОРІВ АЛЬДОЗОРЕДУКАЗИ 11

Бойко Т.П., Коршняк В.О., Костюковська Л.С.
(Харків) МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ
БІОГЕННИХ АМІНІВ ТА ЛІПІДІВ У ХВОРИХ
З ЕКЗОГЕННО ЗУМОВЛЕНИМИ
НЕВРОЛОГІЧНИМИ НАСЛІДКАМИ (ЧЕРЕПНО-
МОЗКОВА ТРАВМА, НЕЙРОІНФЕКЦІЯ,
ІОНІЗУЮЧЕ ВИПРОМІНЮВАННЯ) 17

Саатов Т.С., Акрамова Г.С., Усманова Г.У.
(Ташкент, Узбекистан) ГАНГЛІОЗИДИ Й
АКТИВНІСТЬ АДЕНІЛАТЦИКЛАЗНОЇ СИСТЕМИ
ПРИ РІЗНОМУ ТИРЕОЇДНОМУ СТАТУСІ
ОРГАНІЗМУ 21

Гнатюк М.С., Вykлюк Л.Т. (Тернопіль)
СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПАРАЛЕЛІ
МІЖ СТАНОМ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ
ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДНИМ ЗАХИСТОМ
Й ОСОБЛИВОСТЯМИ УРАЖЕНЬ ПОРОЖНЬОЇ
КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ ОРГАНІЗМУ БЛІДОЮ
ПОГАНКОЮ 25

Недзвєцький В.С., Неруш П.О. (Дніпропетровськ)
ЗМІНИ ПОЛІПЕПТИДНОГО СКЛАДУ
ГЛІАЛЬНИХ ПРОМІЖНИХ ФІЛАМЕНТІВ І
ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ ЩУРІВ, ІНДУКОВАНІ
ХЛОРИДОМ АЛЮМІНІЮ 29

Семчишин Г.М., Лушчак В.І. (Івано-Франківськ)
ХАРАКТЕРИСТИКА ДВОХ ПІКІВ АКТИВНОСТІ
КАТАЛАЗИ ESCHERICHIA COLI 34

Кургалюк Н.М. (Львів) L-АРГІНІН ЯК ЗАСІБ
КОРЕКЦІЇ ПРОЦЕСІВ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО
ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПРИ РАДІАЦІЙНИХ
УРАЖЕННЯХ У ЩУРІВ 38

Сусла О.Б., Мисула І.Р., Лісничук Н.Є. (Тернопіль)
ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ІМУНОЛОГІЧНОЇ
РЕАКТИВНОСТІ У ДОРΟΣЛИХ ТА СТАРИХ
ТВАРИН З АДРЕНАЛІНОВОЮ
МІОКАРДІОДИСТРОФІЄЮ 42

Бульса М.Г. (Щецин, Польща) ЗМІНИ ЩІЛЬНОСТІ
КІСТОК ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ
ОСТЕОПОРОЗУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЖІНОК,
ЯКІ ПРИЙМАЛИ ЕСТРОГЕНИ ПІСЛЯ
ОПЕРАТИВНОГО ВИДАЛЕННЯ МАТКИ З
ПРИДАТКАМИ З ПРИВОДУ ФІБРОМІОМИ 46

Маслак Г.С., Шевцова А.І., Бразалук О.З.
(Дніпропетровськ) ГЛІКОЗИЛЬОВАНІСТЬ
ІМУНОГЛОБУЛІНІВ G В НОРМІ Й ПРИ
ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В ТА С 50

Contents

EDITORIAL

V.N. Zaporozhan, A.I. Hozhenko, A.A. Onyshchenko,
E.L. Zhuhan (Odesa) LEPTIN AND ITS ROLE IN
REGULATION OF ENERGETIC HOMEOSTASIS

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Kozytsky Z.Ya., Kuchmerovska T.M., Velyky M.M.,
Shymansky I.O., Kuchmerovsky M.O. (Lviv, Kyiv)
OXIDATIVE STRESS at PERIPHERAL DIABETIC
NEUROPATHY: EFFECT OF NICOTINAMIDE AND
ALDOSE REDUCTASE INHIBITORS

Boyko T.P., Korshnyak V.A., Kostikovskaya L.S.
(Kharkiv) BIOGENIC AMINE AND LIPID
METHABOLISM CHANGES IN THE PATIENTS
WITH EXOGENICALLY CAUSED NEUROLOGICAL
CONSEQUENCES (HEAD INJURY,
NEUROINFECTION, IONIZING RADIATION)

T.S. Saatov, H.S. Akramova, H.U. Usmanova
(Tashkent, Uzbekistan) GANGLIOZIDES AND
ACTIVITY OF ADENYLATCYCLASE SYSTEM AT
DIFFERENT THYREOID STATUS OF THE
ORGANIZM

Hnatjuk M.S., Vykyuk L.T. (Ternopil) STRUCTURAL
AND FUNCTIONAL PARALLELS BETWEEN
CONDITION OF LIPID PEROXIDATION,
ANTIOXYDANT SYSTEM AND PECULIARITIES
OF JEJUNUM INJURIES AT THE POISONING OF
THE ORGANISM WITH AMANITA PHALLOIDES

Nedzvetsky V.S., Nerush P.A. (Dnipropetrovsk)
ALUMINIUM CHLORIDE INDUCES THE CHANGES
OF BOTH GLIAL INTERMEDIATE FILAMENTS
POLYPEPTIDES AND RATS BEHAVIORAL
REACTIONS

Semchyshyn H.M., Lushchak V.I. (Ivano-frankivsk)
CHARACTERISTICS OF TWO PEAKS OF
CATALASE ACTIVITY IN ESCHERICHIA COLI

Kurhalyuk N.M. (Lviv) L-ARGININE AS MEANS OF
MITOCHONDRIAL ENERGOSUPPORTING
CORRECTION AT RADIATIVE INJUPIES IN RATS

Susla O.B., Mysula I.R., Lisnychuk N.Ye. (Ternopil)
CHARACTERISTICS OF IMMUNE REACTIVITY
CHANGES IN OLD AND ADULT RATS WITH
EPINEPHRINE MYOCARDIAL DYSTROPHY

Bulsa M.G. (Schecin, Poland) CHANGES OF
BONES DENSITY AND BIOCHEMICAL INDICES
OF OSTEOPOROSIS IN BLOOD SERUM OF
WOMEN, WHO USED ESTROGENS AFTER
OPERATIVE REMOVING OF UTERUS WITH
APPENDAGES CONCERNING FIBROMYOMA

Maslak H.S., Shevtsova A.I., Brazaluk O.Z.
(Dnipropetrovsk) IMMUNOGLOBULIN G
GLYCOSYLATION IN NORM AND AT VIRAL
HEPATITIS B AND C

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

- Пікас О.Б.* (Київ) ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СПЕКТР ЛІПІДІВ КОНДЕНСАТУ ВИДИХНУТОГО ПОВІТРЯ В ОСІБ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ ПОМІРНИХ ДОЗ РАДІАЦІЇ ПІСЛЯ АВАРІЇ НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС 54
- Кліщ І.М., Корда М.М., Олещук О.М.* (Тернопіль) ВПЛИВ СОЛЯНОКИСЛОГО ГІДРАЗИНУ НА ЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ В ІЗОЛЬОВАНИХ ГЕПАТОЦИТАХ 57
- Жук П.М., Стельмах І.М.* (Вінниця) ПАРАМЕТРИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЖІНОК КЛІМАКТЕРИЧНОГО ПЕРІОДУ, ХВОРИХ НА ПОПЕРЕКОВИЙ ОСТЕОХОНДРОЗ 60
- Ісаєв С.Г., Кобзар Н.П., Павлій О.І., Свечнікова О.М.* (Харків) ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ КАЛІЄВИХ СОЛЕЙ 3,5-ДИНІТРО- ТА 5-БРОМ-СУЛЬФАМОЇЛ-*N*-ФЕНІЛАНТРАНИЛОВИХ КИСЛОТ 63
- Гонський Я.І., Дмухальська Є.Б., Калинський М.І.* (Тернопіль; Кент, США) КОРЕКЦІЯ УНІТІОЛОМ ТА ГЛІЦИЛ-ТРИПТОФАНОМ БІОХІМІЧНИХ ЗМІН У ТВАРИН З ХІМІЧНИМ УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ 66
- Сорокіна І.О.* (Київ) ВИВЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ ПРИ ІШЕМІЧНИЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ ДО І ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ 69
- Гонтова Т.М., Хворост О.П., Сербін А.Г.* (Харків) ЛОКАЛІЗАЦІЯ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ПАГОНАХ РОСЛИН ПОРЯДКУ BETULALES РОДУ CORYLUS L. 72
- Кисличенко В.С., Халіль Абуюсеф А.А., Король В.В., Криворучко О.В.* (Харків) ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ СПОЛУК, ОТРИМАНИХ З ЛИСТЯ ВИНОГРАДУ 75
- Галникіна С.О.* (Тернопіль) ВПЛИВ ОВЕСТИНУ ТА ФЛУРЕНІЗИДУ НА ПОКАЗНИКИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ І СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ ПРИ ПОСТКАСТРАЦІЙНОМУ СИНДРОМІ 78
- Павлій О.О., Брунь Л.В., Ісаєв С.Г., Зупанець І.А.* (Харків) *D*-(+)-ГЛЮКОЗИЛАМОНІЄВИ СОЛІ *N*-ФЕНІЛАНТРАНИЛОВИХ КИСЛОТ, ЇХ СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ 81
- Швець В.І.* (Чернівці) ЗМІНИ ДІЯЛЬНОСТІ НИРОК І ГЕМОСТАЗУ ЗА НЕОНАТАЛЬНОЇ ЛАКТОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ЩУРЕНЯТ ХЛОРИСТИМИ СПОЛУКАМИ ТАЛІЮ, КАДМІЮ І СВИНЦЮ 84
- Темченко О.І.* (Тернопіль) ЗМІНИ ВМІСТУ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ ПІСЛЯ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З ПУХЛИНАМИ ЯЄЧНИКІВ 87
- Сахарова Т.С., Яковлева Л.В.* (Харків) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ РОСЛИННИХ ЕЛАГОТАНІНІВ 89

ОГЛЯДИ

- Волянський Ю.Л., Крестецька С.Л.* (Харків) ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ АКРИДИНУ І ФЕНАНТРИДИНУ 92

BRIEF REPORTS

- Pikas O.B.* (Kyiv) FATTY-ACID LIPID SPECTRUM OF THE EXPIRED AIR CONDENSATE IN THE INDIVIDUAL WHO WERE UNDERGONE THE EFFECT OF MODERATE RADIATION DOSES FOLLOWING THE CHORNOBYL NPP ACCIDENT 54
- Klishch I.M., Korda M.M., Oleshchuk O.M.* (Ternopil) INFLUENCE OF HYDRAZINE HYDROCHLORIDE ON ENERGETIC PROCESSES IN ISOLATED HEPATOCYTES 57
- Zhuk P.M., Stelmakh I.M.* (Vinnytsia) PARAMETERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN CLIMACTERIC-AGED WOMEN WITH LUMBAR OSTEOCHONDROSIS 60
- Isayev S.H., Kobzar N.P., Pavliy O.I., Sviechnikova O.M.* (Kharkiv) PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF POTASSIUM SALTS OF 3,5-DINITRO- AND 5-BROM-3-SULPHAMOYL-N-PHENYLANTHRANYLIC ACIDS 63
- Honsky Ya.I., Dmukhalska Ye.B., Kalynsky M.I.* (Ternopil; Kent, USA) THE CORRECTION OF THE BIOCHEMICAL CHANGES IN ANIMALS WITH CHEMICAL LESION OF THE LIVER BY UNITHIOL AND GLYCILTRYPTOPHANE 66
- Sorokina I.O.* (Kyiv) STUDYING OF FATTY ACID STRUCTURE OF BLOOD SERUM LIPIDS AT ISCHEMIC HEART DISEASE BEFORE AND AFTER TREATMENT 69
- Hontova T.M., Khvorost O.P., Serbin A.H.* (Kharkiv) LOCALIZATION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN STEMS OF BETULALES ORDER CORYLUS L. GENUS PLANTS 72
- Kyslychenko V.S., Khalil Abuyousef A.A., Korol V.V., Kryvoruchko Y.V.* (Kharkiv) ANALYSIS OF LIPOPHILIC MATERIALS OBTAINED FROM VINE LEAVES 75
- Halnykina S.O.* (Ternopil) THE INFLUENCE OF OVESTIN AND FLURENIZID ON LIPOPEROXIDATION INDICES AND ANTIOXIDANT SYSTEM AFTER SURGICAL MENOPAUSE 78
- Pavliy O.O., Brun L.V., Isayev S.G., Zupanets I.A.* (Kharkiv) *D*-(+)-GLUCOZILAMONII SALTS OF *N*-PHENYLANTHRANILIC ACIDS, THEIR SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY 81
- Shvets V.I.* (Chernivtsi) CHANGES OF KIDNEYS' FUNCTION AND HEMOSTASIS AT LACTOGENIC INTOXICATION OF NEWBORN RATS WITH CHLOROUS COMPOUNDS OF THALLIUM, CADMIUM AND PLUMBUM 84
- Temchenko O.I.* (Ternopil) CHANGES OF MEDIUM-MASS MOLECULES CONTENTS AFTER SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH OVARIAN TUMOURS 87
- Sakcharova T.S., Yakovleva L.V.* (Kharkiv) EXPERIMENTAL STUDY OF EMBRANOPROTECTIVE PROPERTIES OF DRUGS ON THE BASIS OF PLANT ELLAGOTANNINS 89

REVIEWS

- Voliansky Yu.L., Krestetska S.L.* (Kharkiv) PERSPECTIVES OF CREATION OF ANTIMICROBIAL REMEDIES BASED ON THE ACRIDINE AND PHENANTRIDINE DERIVATIVES 92

ЛЕПТИН І ЙОГО РОЛЬ У РЕГУЛЯЦІЇ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ГОМЕОСТАЗУ

В.М. Запорожан, А.І. Гоженко, О.О. Онищенко, Е.Л. Жуган
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У роботі наведено дані літератури щодо регуляції енергетичного гомеостазу на рівні організму. Показано ключову роль лептину, викладено відомості про механізми його секреції та дії щодо регуляції жирового обміну у патогенезі ожиріння, а також про вплив даного гормону на різні органи та системи. Наголошено на важливій дії лептину на репродуктивну систему та можливій участі в механізмах патології цієї системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **енергетичний гомеостаз, жировий обмін, лептин.**

Енергетичний гомеостаз у людини та тварин є найважливішою умовою їх існування. Проте визнання явища гомеостазування енергообміну значною мірою стримувалося відсутністю даних про наявність відповідної системи регуляції, яка необхідна для гомеостазування будь-якого з параметрів внутрішнього середовища організму. Тому велика увага приділялася механізмам регуляції енергетичного обміну, але це здебільшого стосувалося впливу на ефекторні системи, особливо мітохондрій. Між тим, давно ставилося питання, що енергетичний гомеостаз повинен включати систему регуляції загальної кількості енергетичних речовин в організмі, яка, безумовно, є важливою умовою вільного існування організму в навколишньому середовищі, коли витрати енергії постійні, а надходження періодичні.

Упродовж багатьох років припускалось, що регуляція енергетичного балансу у ссавців здійснюється за принципом “зворотного зв’язку” – інформація про кількість резервної енергії в організмі сприймається гіпоталамусом, який, у свою чергу, регулює співвідношення між споживанням їжі та витратою енергії таким чином, щоб підтримувати необхідну масу тіла. У зв’язку з даною гіпотезою, повинна була існувати речовина-посередник, яка виділялася б жировою тканиною, циркулювала у плазмі та постачала інформацію до гіпоталамуса, а отже, впливала на енергетич-

ний баланс організму [27]. Нарешті в 1994 році цей посередник був відкритий Jeffrey Friedman et al. у Рокфеллерському університеті. Продукт гена “повноти” (об гена) [18] названо, за пропозицією Halaas et al., лептином (від грец. leptos – тонкий) [46].

Лептин – гормон білкової природи, який секретується адипоцитами [4, 35] (розміри адипоцитів є важливими детермінантами синтезу лептину – чим більші адипоцити за об’ємом, тим більше вони містять лептину), плацентою, скелетними м’язами, епітелієм молочних залоз і шлунком. Існує ієрархія за рівнем знаходження лептинової РНК у жировій тканині: епідидимальна, ретроперитонеальна та перикардіальна біла жирова тканина > мезентеріальна та підшкірна біла жирова тканина і бура міжлопаткова жирова тканина [30, 32]. Є строга позитивна кореляція між лептиновою мРНК, рівнем білка в адипозній тканині та рівнем циркулюючого лептину.

Лептин складається із 167 амінокислот, серед яких кінцева послідовність із 21 амінокислоти є сигнальною [13, 34, 38, 46], вона направляє протеїн до секреторного відділу, звідки він і виділяється. Лептин у вигляді поліпептиду, який складається із 146 амінокислот, циркулює в кровотоці. Крім того, він має внутрішньоцелюжкові дисульфідні містки, які, мабуть, необхідні для його біологічної активності.

Розрізняють зв’язаний (у нормі його 80 %) і вільний (у нормі його 20 %; він переважає в крові повних людей) лептин [22, 39]. У процесі моделювання молекули людського лептину

було з'ясовано, що його структура – це глобулярний протеїн із третинною структурою, яка схожа з гемопоетичними цитокінами (такими, як інтерлейкіни) [13].

Синтез гормону контролюється об геном [25], який у людей розміщений у 7-й хромосомі (7q31.3) [24].

Рецептори (ob-R) було виявлено в центральних і периферичних тканинах [11, 41]. У людей є 2 великі групи ob-R: коротка і довга форми. Коротка форма (ob-Rs) має 5 ізоформ (ob-Ra; ob-Rc; ob-Rd; ob-Re – це розчинна форма рецептора [40]; ob-Rf) і знаходиться в гіпоталамусі, яєчках та жировій тканині [13, 43]. Довга форма (ob-RI) має одну ізоформу (ob-Rb), міститься переважно в гіпоталамусі [15], а також у невеликій кількості в периферичних тканинах, перетворює внутрішньоклітинні сигнали, як цитокінові рецептори IL-6 (структура ob-RI подібна до рецепторів 1-го класу цитокінів, таких, як глікопротеїн-130) [8, 43]. Рецептори до лептину виявляються в легенях, нирках, печінці, підшлунковій залозі, надниркових залозах, яєчниках, стовбурних клітинах гемопоєзу, скелетних м'язах. Така розповсюдженість лептинових рецепторів у організмі може свідчити про те, що лептин регулює не тільки відчуття насичення. Однак увесь спектр його впливів, пов'язаний з активацією лептинових рецепторів, вивчено ще недостатньо.

Відомо, що лептин взаємодіє із специфічними ob-R у ЦНС як ендогенний ліганд [16]. Було з'ясовано, що при наявності функціональної недостатності лептину ob-R не підвладні контролю [23].

Основними функціями лептину є:

1. Гальмування гіпоталамуса.
2. Підвищення печінкового глікогенолізу та захоплення глюкози скелетними м'язами [1, 2, 43].
3. Пригнічення дії інсуліну на глюконеогенез (шляхом стимуляції фосфоенолпіруваткарбоксілази) [1, 2].
4. Гальмівний вплив на фосфорилування тирозину – субстрату інсулінового рецептора (IRS-1) [1, 2].
5. Збільшення швидкості ліполізу, зменшення вмісту тригліцеридів у білій жировій тканині [1, 2].
6. Посилення термогенезу [3].
7. Стимуляція ЦНС та симпатичної НС [3].
8. В онтогенезі – участь у формуванні плаценти [1, 3].
9. Стимуляція гемопоєзу та ангиогенезу [1, 3].

Синтез лептину визначається кількістю споживаної їжі. Його рівень знижується при

голодуванні й зростає внаслідок надмірного споживання їжі. За сучасними уявленнями, лептин подає сигнал до гіпоталамусу шляхом активації специфічного лептинового рецептора, що проявляється зменшенням споживання їжі та зростанням витрат енергії. При цьому через специфічні рецептори в гіпоталамусі він пригнічує синтез нейропептиду Y (NPY), який продукується нейронами аркуатного ядра, що призводить до зниження апетиту, збільшення тону симпатичної нервової системи і витрат енергії, а також до зміни обміну речовин у периферичних органах і тканинах. Внаслідок обмеження споживання їжі концентрація лептину в сироватці знижується (схема 1) [10, 17, 19, 36, 42, 45].

На рівні гіпоталамуса лептин впливає на продукцію нейропептидів з аноректичною дією (меланіноцитстимулювальний гормон, кортикотропін рилізінг-гормон) та рівень пептидів, що стимулюють споживання їжі.

Очевидно, лептинові рецептори, що забезпечують транспорт лептину з крові до інтерсиціальної тканини головного мозку і спинномозкової рідини через гематоенцефалічний бар'єр, знаходяться в ендотелії капілярів і судинних сплетіннях головного мозку. При досягненні лептином у сироватці певної концентрації (25-30 нг/мл) подальше її зростання не супроводжується паралельним збільшенням концентрації лептину в тканині мозку та спинномозковій ріднині. Цей феномен може відігравати певну роль у розвитку резистентності до лептину та ожиріння [5, 12].

Рівень лептину в сироватці підвищується при зростанні маси жирової тканини, до того ж його продукція в підшкірній жировій клітковині більша, ніж у вісцеральних жирових депо [9, 10, 28, 31]. Рівень лептину віддзеркалює не тільки кількість набутого жиру, але й порушення енергетичного обміну: при голодуванні його вміст значно знижується, внаслідок надмірного споживання їжі – зростає. Холецистокінін та гастрин знижують синтез лептину в шлунку та збільшують рівень плазмового лептину, що можна використати для короткочасної регуляції апетиту. Склад споживаної їжі (особливо вміст макро- та мікроелементів, наприклад цинку) та різні гормональні фактори також впливають на рівень лептину [12]. Вміст лептину в загальному кровотоці підпорядковується циркадним ритмам – вночі він збільшується (незважаючи на відсутність їжі), а вранці зменшується. Куріння, яке супроводжується розвитком гіперадренергічного стану, сприяє або підвищенню рівня лептину, або чутливості мозкових рецепторів до лептину. В ряді досліджень

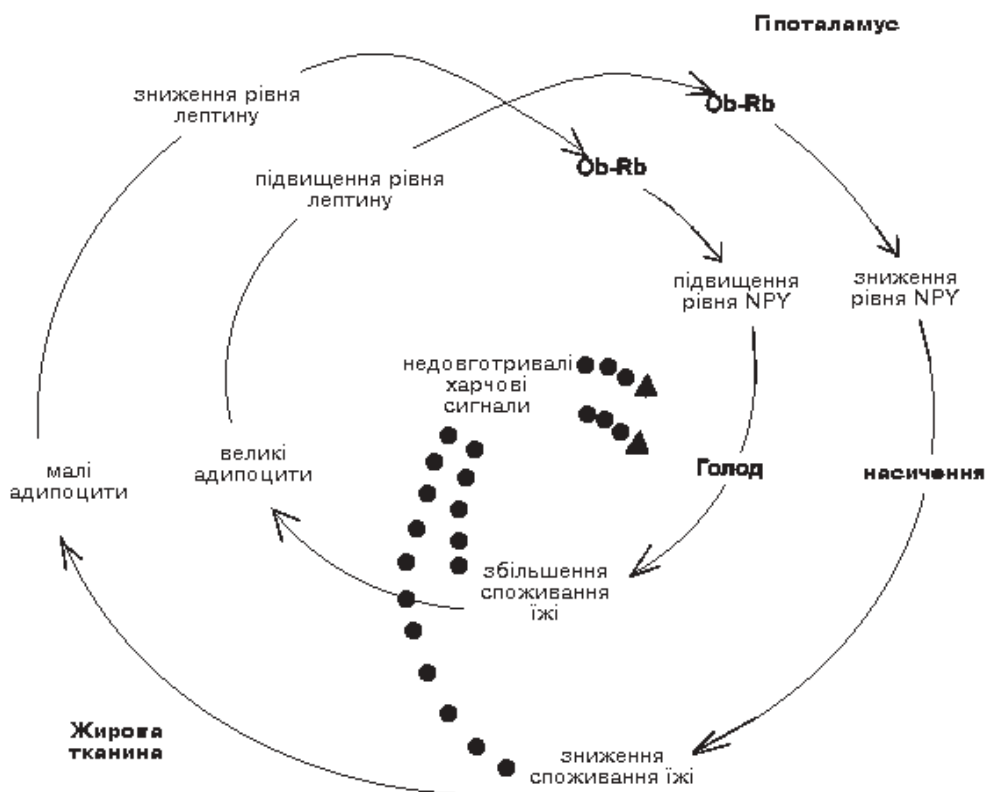


Схема 1. Механізм зворотного зв'язку, що показує регуляцію маси в людини і гризунів [45].

було показано, що деякі цитокіни, наприклад фактор некрозу пухлин α , інтерлейкін-1 та інтерлейкін-6, знижують рівень лептину. Лептин збільшує темп ліполізу в білій жировій тканині, що призводить до зменшення запасів тригліцеридів. Він також знижує вміст тригліцеридів у печінці, скелетних м'язах та підшлунковій залозі, заважаючи їх створенню з неетерифікованих жирних кислот. Було з'ясовано, що лептин чинить ЦНС-опосередкований вплив на метаболізм глюкози, незалежно від аноректичного ефекту. Внутрішньовенне введення лептину збільшує продукцію глюкози і зменшує вміст глікогену у печінці [1].

Нещодавно проведене дослідження на мишах (введення лептину мишам лінії ob/ob з дефіцитом лептину через наявність мутацій у гені) дозволило припустити, що в людини ожиріння також може бути зумовлене дефіцитом цього гормону, і введення екзогенного лептину може сприяти корекції даного стану. Було описано кілька випадків ожиріння крайнього ступеня з раннім початком, які були пов'язані з інактивними мутаціями гену лептину, але в ході кількох великомасштабних досліджень такі мутації в загальній популяції не виявили. Таким чином, дефіцит лептину зовсім не є основною причиною розвитку ожиріння.

Навпаки, в осіб, які хворіють на ожиріння, дуже часто відзначається підвищений рівень лептину, в більшості випадків ожиріння зумовлене резистентністю до лептину. Важливо визначити, які порушення сприяють розвитку резистентності до лептину. Нещодавно проведені дослідження дозволяють припустити, що лептин активує супресор 3-ї сигнальної системи цитокінів, який пригнічує сигнали лептину, сприяючи розвитку як лептино-резистентності, так і ожиріння. Продовжується пошук мутацій в інших молекулах, на які впливає лептин, наприклад у рецепторі меланоцитстимулювального гормону (МС-4). На взаємозв'язок лептину з рецептором можуть впливати глюкокортикоїди, сприяючи розвитку резистентності до лептину на рівні центральної нервової системи. Резистентність може виникати також на рівні гематоенцефалічного бар'єру, який забезпечує транспорт лептину з крові до мозку. Часто одні й ті ж дози лептину, які не чинять ніякої дії при периферичному введенні, ефективно знижують апетит при центральному введенні [1].

Як показано в сучасних роботах, введення лептину спричиняє зниження маси тіла. Причому на фоні введення лептину в свавців зменшується тільки маса жирової тканини, тоді як при голодуванні знижується також маса

інших тканин. У більшості випадків при ожирінні відмічається високий рівень ендogenous лептину, що вказує на наявність резистентності до цього гормону, але зовсім не означає абсолютної резистентності до екзогенного лептину. Досі ще не відомо, чи можливо подолати резистентність до лептину та знизити масу тіла за допомогою великих доз лептину.

Нещодавно було запропоновано гіпотезу про участь лептину в адаптації організму до голодування. При цьому враховуються основні функції лептину: зниження витрат енергії за рахунок зменшення синтезу гормонів щитоподібної залози та теплоутворення, мобілізація енергетичних ресурсів внаслідок підвищеної продукції глюкокортикоїдів та пригнічення репродуктивної функції. Глюкокортикоїди безпосередньо стимулюють його синтез у культурі адипоцитів, експресія лептину збільшується у відповідь на хронічне зростання вмісту кортизолу в плазмі крові людини. Введення лептину голодуючим мишам сприяє корекції нейроендокринних порушень, пов'язаних зі зниженням рівня ендogenous лептину, тобто викликає зменшення активності щитоподібної та статевих залоз на фоні стимуляції надниркових залоз. Цей ефект лептину реалізується через зміну секреції нейропептиду Y. Саме низький рівень лептину лежить в основі метаболічних та нейроендокринних зсувів, які характерні для нервової анорексії та лікувального голодування. При кахексії та неспецифічних розладах апетиту рівень лептину в крові не відрізняється від рівня лептину в здорових людей з аналогічним індексом маси тіла. Проте результати одного з досліджень дозволяють припустити, що при нервовій анорексії транспорт лептину крізь гематоенцефалічний бар'єр підвищений при більш низькій концентрації лептину. В таких хворих у міру відновлення маси жирової тканини рівень лептину в спинномозковій рідині починає зменшуватися і досягає нормальних величин задовго до того, як нормалізується маса тіла. Крім того, у хворих з кахексією зниження рівня лептину тісно пов'язане з нейроендокринними порушеннями. Так, при низькому рівні лептину може розвинути аменорея. Тому в жінок з кахексією задля відновлення менструацій потрібен лептин. Відзначено, що на фоні посиленого харчування відбувається збільшення концентрації як лютеїнізуючого гормону, так і лептину.

Синтез лептину також стимулюється інфекцією, ендотоксинами і цитокінами, наприклад TNF, LIF і IL-1. Збільшення вмісту лептину внаслідок підвищення рівня цитокінів може

викликати анорексію та втрату маси при запальних станах. Вплив холоду та катехоламінів знижує експресію лептину, мабуть, шляхом активації β -адренергічних рецепторів.

На сьогодні є достатньо даних, які дозволяють вважати, що лептин відіграє важливу роль у фізіології та патології репродуктивної системи [29]. Дуже цікавим є той факт, що рівень лептину в жінок виявився у 2-3 рази вищим, ніж у чоловіків [9, 14, 21, 33, 44].

Як у чоловіків, так і в жінок лептин необхідний для дозрівання репродуктивної осі, на це вказує його здатність відновлювати статеву зрілість та фертильність в ob/ob мишей і посилювати репродуктивну поведінку в гризунів [7, 26, 32, 37]. Критичний рівень лептину потрібний для запуску репродуктивної функції в жінок і підтверджує ефект „порога“.

Найбільша кількість даних є про вплив лептину на репродуктивну систему жінок. Відомо, що статеве дозрівання в організмі жінки потребує досягнення певного рівня маси тіла і ступеня жировідкладення. Вважається, що поява менархе пов'язана з досягненням маси тіла 47 кг при 24 % вмісті в ній жирового компонента [6]. При цьому лептин зростає в середньому на 50 % перед початком пубертату. Навпаки, значне зниження маси тіла заважає нормальній репродуктивній функції, може розвинути аменорея. Тут лептин подає сигнал репродуктивній системі про адекватний запас енергії.

Отже, зараз встановлено, що жирова тканина не тільки є основним депо енергії в організмі людей і тварин, але й продукує лептин, який бере активну участь у регуляції енергетичного гомеостазу. Численні ефекти зумовлені ключовою роллю енергетичного гомеостазу в життєдіяльності організму, в реалізації яких лептину відводиться центральне місце. Тепер зрозуміло, що порушення лептинової регуляції мають важливе значення в розвитку ожиріння, тому визначення механізмів його розвитку, діагностика, а невдовзі й лікування, без врахування ролі лептину не можливі.

На сьогодні вже незаперечним є факт, що лептин не тільки відіграє центральну роль у енергетичному гомеостазі, регулюючи механізми надходження, депонування та використання енергетичних речовин, але й суттєво впливає на численні функції, особливо ті, що пов'язані із енергетичним обміном. Тому, безумовно, подальші дослідження в цьому напрямку призведуть до визначення також і ролі лептину в патології репродуктивної системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аметов А.С., Демидова Т.Ю., Целиковская А.Л. Влияние лептина на регуляцию массы тела // Сердечная недостаточность. – 2001. – 2, № 3. – С. 21-24
2. Бутрова С.А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению // Рус. мед. журн. – 2001. – 9, № 2. – С. 15-23.
3. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. – С. Пб.: ЭЛБИ, 2000. – Ч. 2: Основы патохимии. – 688 с.
4. МакДермотт М.Т. Секреты эндокринологии: Пер. с англ. – М.-С.-Пб.: БИНОМ–Невский диалект, 2001. – 464 с.
5. Нурмухаметова Е. Нарушение транспорта лептина при ожирении // Рус. мед. журн. – 1997. – 5, № 4. – 32 с.
6. Шнирельман А.И. Рост и развитие детей и подростков // Итоги науки и техники. – Деп. в ВИНТИ. Серия: Антропология. – 1985. – 200 с.
7. Ahima R.S., Dushay J., Flier S.N. et al. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice // J. Clin. Invest. – 1997. – 99. – P. 391-395.
8. Baumann H., Morella K.K., White D.W. et al. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1996. – 93. – P. 8374-8378.
9. Bennett F.I., McFarlane-Anderson N., Wilks R. et al. Leptin concentration in women is influenced by regional distribution of adipose tissue // Am. J. Clin. Nutr. – 1997. – 66. – P. 1340-1344.
10. Campfield L.A., Smith F.J., Guisez Y. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks // Sci. – 1995. – 269. – P. 546-549.
11. Cao G.Y., Considine R.V., Lynn R.B. Leptin receptors in the adrenal medulla of the rat // Am. J. Physiol. – 1997. – 273. – P. 448-452.
12. Caro J.F., Kolaczynski J.W., Nyce M.R. et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance // Lancet. – 1996. – 348. – P. 159-161.
13. Considine R.V., Caro J.F. Leptin: Genes, Concepts and Clinical Perspective // Horm. Res. – 1996. – 46. – P. 249-256.
14. Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans // New Eng. J. Med. – 1996. – 334. – P. 292.
15. Considine R.V., Considine E.L., Williams C.J. et al. The hypothalamic leptin receptor in humans: identification of incidental sequence polymorphisms and absence of the db/db mouse and fa/fa rat mutations // Diabetes. – 1996. – 45. – P. 992-994.
16. Costa A., Poma A., Martignoni E. et al. Stimulation of corticotrophin-releasing hormone release by the obese (ob) gene product, leptin, from hypothalamic explants // Neuroreport. – 1997. – 8. – P. 1131-1134.
17. Friedman J.M., Halaas J.L. Leptin and the regulation of body weight in mammals // Nature. – 1998. – 395. – P. 763-764.
18. Gong D.W., Bi S., Pratley R.E. et al. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene // J. Biol. Chem. – 1996. – 271. – P. 3971-3974.
19. Halaas J.L., Gajiwala K.S., Friedman J.M. Weight-reducing effects on the plasma protein encoded by the obese gene // Sci. – 1995. – 269. – P. 543-546.
20. He Y., Chen J., Quon M.J. et al. The mouse obese gene // J. Biol. Chem. – 1995. – 270. – P. 28887-28891.
21. Hickey M.S., Israel R.S., Gardiner S.N. et al. Gender differences in serum leptin levels in humans // Biochem. Mol. Med. – 1996. – 59. – P. 1-6.
22. Houseknecht K.L., Mantzoros C., Kuliawat R. et al. Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity // Diabetes. – 1996. – 45. – P. 1638-1643.
23. Huang X.F., Lin S., Zhang R. Upregulation of leptin receptor mRNA expression in obese mouse brain // Neuroreport. – 1997. – 8. – P. 1035-1038.
24. Isse N., Ogawa Y. Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene // J. Biol. Chem. – 1995. – 270. – P. 27728-27733.
25. Leroy P., Dessolin S., Villageois P. et al. Expression of ob gene in adipose cells // J. Biol. Chem. – 1996. – 271. – P. 2365-2368.
26. Liu C., Liu X., Barry G. et al. Expression and characterization of a putative high affinity human soluble leptin receptor // Endocrinol. – 1997. – 138. – P. 3548-3554.
27. Lonnqvist F., Arner P., Nordfors L. et al. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects // Nat. Med. – 1995. – 1. – P. 950-952.
28. Lonnqvist F., Wennlund A., Arner P. Relationship between circulating leptin and peripheral fat distribution in obese subjects. // Int. J. Obesity Relat. Metab. Disord. – 1997. – 21. – P. 255-260.
29. Macut D. The role of leptin in regulation of reproductive system // Ginecol. Endocrinol. – 1998. – 6. – P. 321.
30. Murakami T., Shima K. Cloning of rat obese cDNA and its expression in obese rats // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 1995. – 209. – P. 944-952.
31. Niskanen L.K., Haffner S., Karhunen L.J. et al. Serum leptin in obesity is related to gender and body fat topography but does not predict successful weight loss // Eur. J. Endocrinol. – 1997. – 137. – P. 61-67.
32. Ogawa Y., Masuzaki H., Isse N. Molecular Cloning of Rat Obese cDNA and Augmented Gene Expression in Genetically Obese Zucker Fatty (fa/fa) Rats // J. Clin. Invest. – 1995. – 96. – P. 1647-1652.
33. O'Rahilly S. Life without leptin // Nature. – 1998. – 393. – P. 330-331.
34. Ostlund R.E., Yang J.W., Klein S. et al. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1996. – 81. – P. 3909-3913.
35. Pankov Yu.A. Leptin – a peptide hormone from adipocytes // Sensation of the 23rd FEBS Meeting. Bioorg. Khim. – 1996. – 22. – P. 228-233.
36. Pelleymounter M.A., Cullen M.J., Baker M.B. et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice // Sci. – 1995. – 269. – P. 540-543.

37. Rosenbaum M., Leibel R.L. Leptin: a molecule integrating somatic energy stores, energy expenditure, and fertility // Trends Endocrinol. Metab. – 1998. – **9**. – P. 117-124.
38. Saladin R., Staels B., Auwerx J. et al. Regulation of ob Gene Expression in Rodents and Humans // Horm. Metab. Res. – 1996. – **28**. – P. 638-641.
39. Sinha M.K., Opendatova I., Ohanessian J. et al. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting // J. Clin. Invest. – 1996. – **98**. – P. 1277-1282.
40. Takaya K., Ogawa Y., Isse N. et al. Molecular cloning of rat leptin receptor isoform complementary DNA-s-identification of a missense mutation in Zucker fatty (fa/fa) rats // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1996. – **225**. – P. 75-83.
41. Tartaglia L.A., Dembski M., Weng X. et al. Identification and Expression Cloning of a Leptin Receptor, OB-R // Cell. – 1995. – **83**. – P. 1263-1271.
42. Wang Q., Bing C., Al-Barazanji K. et al. Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy homeostasis in the rat // Diabetes. – 1997. – **46**. – P. 335-341.
43. Wang Y., Tartaglia L.A., Baumann H. et al. Leptin receptor action in hepatic cells // J. Biol. Chem. – 1997. – **272**. – P. 16216-16223.
44. Wauters M., Mertens I., Considine R. et al. Are leptin levels dependent on body fat distribution in obese men and women? // J. Eat. Weight Disord. – 1998. – **3**. – P. 124-130.
45. Weigle D.S., Kuijper J.L. Feedback loop proposed to regulate weight in humans and rodents // Mouse Models of Human Obesity. Science and Medicine. – 1997. – **4**. – P. 38-45.
46. Zhang Y., Maffei M., Friedman J.M. Positional Cloning of the mouse obese gene and its human homologue // Nature. – 1994. – **372**. – P. 425-431.

ЛЕПТИН И ЕГО РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА

В.Н. Запорожан, А.И. Гоженко, А.А. Онищенко, Э.Л. Жуган
ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В работе приведены данные литературы касательно регуляции энергетического гомеостаза на уровне организма. Показана ключевая роль лептина, изложены сведения о механизмах его секреции и действия относительно регуляции жирового обмена и патогенеза ожирения, а также о воздействии лептина на разные органы и системы. Подчеркнуто важное действие лептина на репродуктивную систему и возможное участие в механизмах патологии этой системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: энергетический гомеостаз, жировой обмен, лептин.

LEPTIN AND ITS ROLE IN REGULATION OF ENERGETIC HOMEOSTASIS

V.N. Zaporozhan, A.I. Hozhenko, A.A. Onyshchenko, E.L. Zhuhan
ODESA STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

In our research paper we cite literary data concerning the regulating mechanism of the energetic homeostasis at organism's level. The key role of leptin was demonstrated. There were stated the data on secretion mechanism, its action in regulation of lipid metabolism and in the obesity pathogenesis. Our research work adduces data about leptin action towards different organs and systems, it is underlined the importance of its affecting the reproductive system and possible participation in mechanisms of its pathology.

KEY WORDS: energetic homeostasis, lipid metabolism, leptin.

Отримано 16.01.2002 р.

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

УДК 577.164.1+577.115+577.151:616.379-008.64

**ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ЗА ПЕРИФЕРИЧНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ:
ЕФЕКТ НІКОТИНАМІДУ ТА ІНГІБІТОРІВ АЛЬДОЗОРЕДУКТАЗИ****З.Я. Козицький¹, Т.М. Кучмеровська, М.М. Великий²,
І.О. Шиманський, М.О. Кучмеровський****ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО¹
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ²**

Виявлено, що при експериментальному стрептозотоциновому діабеті в тканині сідничного нерва шурів активуються процеси вільнорадикальної пероксидації ліпідів та знижується активність ферментів антиоксидного захисту (зниження вмісту відновленого глутатіону супроводжувалось зменшенням активності глутатіонпероксидази та зростанням активності глутатіонредуктази). Введення діабетичним тваринам нікотинамід та інгібіторів альдозоредуктази показало, що нікотинамід та унітіол знижували інтенсивність процесів ПОЛ та частково нормалізували активність ферментів антиоксидного захисту в сідничному нерві, тоді як AL-1576 суттєво не впливав на ці процеси. Одержані результати свідчать про доцільність застосування нікотинамід та унітіолу в клініці лікування діабетичної нейропатії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: діабетична нейропатія, нікотинамід, інгібітори альдозоредуктази, AL-1576, унітіол, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, антиоксидний захист.

ВСТУП. Ускладнення діабету, особливо діабетична нейропатія, тісно пов'язані зі зростанням кількості молекулярних пошкоджень білків, ліпідів, нуклеїнових кислот, які викликані вільними радикалами [17]. Тоді як за нормального фізіологічного стану генерація активних форм кисню (АФК) та радикальних продуктів регулюється ферментною та неферментною антиоксидною системою захисту, за патологічного має місце порушення метаболічного співвідношення між анти- і прооксидною системами. Порушення взаємовідповідності швидкості утворення перекисних сполук та активності ферментів антиоксидного захисту призводить до розвитку оксидативного стресу і нагромадження вільнорадикальних сполук [10]. В останні роки отримано експериментальні підтвердження провідної ролі активації процесів ПОЛ у розвитку структурно-функціональних і метаболічних порушень при різних формах цукрового діабету у людей та при моделюванні цієї патології у тварин [9, 14, 19].

Гіперглікемія як основний чинник патогенезу діабетичних ускладнень зумовлює структурні та функціональні зміни в тканинах, що опосередковуються активацією поліолового

шляху обміну глюкози, інтенсифікацією процесів перекисного окиснення ліпідів, неферментативного глікозилювання та окисної модифікації білків [5, 18, 26].

Дані літератури та результати власних досліджень свідчать про те, що накопичення сорбітолу в периферичних нервах, як результату активації поліолового шляху обміну глюкози, лежить в основі розвитку діабетичної нейропатії [8, 26].

Відомо, що нікотинамід (NAm) бере участь у регуляції енергетичного гомеостазу нервової системи, оскільки є попередником біосинтезу нікотинамідних коферментів у тканинах та направлено впливає на окисно-відновний стан вільних NAD(P)-пар [3]. Раніше нами було доведено здатність NAm та його біоактивних похідних коригувати ряд метаболічних показників за діабетичної нейропатії [7, 8, 12], що, ймовірно, здійснюється із залученням антиоксидного компоненту їх дії.

Поряд з NAm, у сучасній діабетології широко застосовують препарати вузьконаправленої дії, серед яких чільне місце посідають інгібітори альдозоредуктази, що здатні послаблювати ускладнення діабету в деяких тканинах, включаючи нирки, сітківку ока, кришталик, судини, периферичні нерви [12, 26]. Наші попередні дослідження показали пряму

© З.Я. Козицький, Т.М. Кучмеровська, М.М. Великий – д.б.н., проф., І.О. Шиманський, М.О. Кучмеровський, 2002.

гальмівну дію інгібіторів альдозоредуктази (AL-1576, унітіол, сорбініл) на активність поліолового шляху обміну глюкози в сідничному нерві при діабеті [3, 7, 8, 12]. Крім того, відомо, що вони здатні коригувати швидкість проведення нервового імпульсу по нервових волокнах та частково їх регенерувати [24].

З метою оцінки можливості залучення процесів ПОЛ як ланки реалізації нейропротекторного ефекту нікотинаміду та інгібіторів альдозоредуктази в даній роботі досліджено функціональний стан процесів ПОЛ та системи антиоксидного захисту в сідничному нерві щурів при експериментальній діабетичній нейропатії та за умов уведення зазначених сполук.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 150-180 г. Цукровий діабет викликали одноразовим внутрішньочеревним уведенням стрептозотоцину з розрахунку 70 мг/кг маси тіла на 0,1 М цитратному буфері, рН-4,5. Тварин з рівнем глюкози крові ($16,5 \pm 1,9$) ммоль/л брали для дослідження. Щурів з експериментальним цукровим діабетом поділили на 4 групи: 1-а група не отримувала лікування, тваринам 2-ї групи внутрішньочеревно вводили NAm у дозі 200 мг/кг маси тіла, 3-ї та 4-ї – інгібітори альдозоредуктази – AL-1576 ((спіро-2,7-дифлуорофлуорен-9,4'-імідазолідин)-2',4'-діон) в дозі 4 мг/кг маси тіла per os та унітіол (2,3-димеркаптопропансульфонат натрію) в дозі 9 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово щодобово протягом 2-х тижнів. Тварин декапітували натщесерце з використанням анестезії. Швидко видаляли сідничний нерв, поміщали в холодний фізіологічний розчин та гомогенізували в 0,32 М сахарозі (1:9). У гомогенаті сідничного нерва визначали вміст МДА за кольоровою реакцією з ТБК, дієнових кон'югатів. Активність ферментів антиоксидного захисту (супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіонредуктази (ГР)) визначали за методами, описаними в літературі [4, 6, 11, 13, 15, 16]. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали згідно з методом, який базується на реакції сульфгідрильних груп з реактивом Елмана (5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойна кислота). Вміст білка визначали за Лоурі та співавт. [25]. Статистичний аналіз одержаних даних здійснювали, використовуючи стандартний критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При експериментальному стрептозотоциновому цукровому діабеті в тканині сідничного нерва щурів

посилюються процеси вільнорадикальної пероксидації ліпідів, про що свідчить зростання вмісту проміжних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (на 102 %) та кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду (на 71,8 %) (табл. 1). Деструктивна дія продуктів ПОЛ призводить до підвищення частоти конформаційних змін макромолекул при ураженні мембранних структур [5, 17, 19]. Спонтанне та індуковане окиснення ненасичених жирних кислот АФК призводить до зменшення їх відносного вмісту та зростання співвідношення насичені/ненасичені жирні кислоти. Зміни впорядкованості мембранних фосfolіпідів викликають зменшення плинності мембран, підвищення чутливості до дії агоністів та зміни у функціонуванні внутрішньоклітинних регуляторних систем, таких, як циклічні нуклеотиди, іони Ca^{2+} , інозитолфосфати. При цукровому діабеті спостерігається також активація NO-синтаз, що призводить до зростання концентрації оксиду азоту. Відповідно, велике значення в інтенсифікації перебігу процесів вільнорадикального окиснення має пероксинітрид ($ONOO^-$), утворений при взаємодії супероксиданіон радикала (O_2^-) та оксиду азоту (NO) [28].

Функціонування ферментативної антиоксидної системи, яка включає взаємодоповнюючі ферменти (СОД, каталазу, глутатіонпероксидазу та глутатіонредуктазу), спрямоване на ефективне гальмування процесів ПОЛ у тканинах [26]. Виявлено, що активність ферментів антиоксидного захисту значно знижується в тканині сідничного нерва діабетичних щурів (табл. 2). Так, активність СОД – основного ферменту першої ланки антиоксидного захисту – знижується майже в 3 рази, активність каталази зменшується на 60 %. Виявлене нами гальмування активності СОД і каталази в сідничному нерві може зумовлюватись модифікацією антиоксидних ферментів глюкозою, фруктозою та АФК, що узгоджується з даними літератури [5, 9, 26].

При тривалій гіперглікемії активуються процеси неферментативного глікозилювання, а в тканинах, в яких проникність глюкози не регулюється інсуліном, – неферментативного фруктозилювання. Результатом таких модифікацій є зміни структурно-функціональних властивостей білків і, як наслідок, розвиток ускладнень діабету [1, 26].

Активні форми кисню – супероксидний аніон-радикал, перекис водню та гідроксильні радикали – здатні здійснювати окисну модифікацію як ізольованих білків, так і білків інтактних клітин та внутрішньоклітинних органел. Специфіка окисної модифікації зумовлюється

особливістю амінокислотного складу білків і супроводжується, як правило, фрагментацією та розпадом на низькомолекулярні компоненти, що робить їх більш чутливими до протеолізу. Зміни активності ферментів під дією АФК пояснюються локальними порушеннями в ділянці активного центру або будь-якій функціональній ділянці білкової молекули, які можуть бути пов'язані з окисною модифікацією амінокислотних залишків (сірковмісних амінокислот, гістидину, триптофану, тирозину тощо), зміною валентності та конформаційної геометрії металів з перехідною валентністю у ферментах [5]. До білків, окисна модифікація яких супроводжується зміною активності, належать і ферменти антиоксидного захисту (супероксиддисмутаза, каталаза та Se-глутатіонпероксидаза), оскільки всі три є металоферментами.

Потужним компонентом антиоксидного захисту клітини є і глутатіон-глутатіонредуктазна система. Глутатіон, ГПО, ГР, глутатіонтрансфераза та NADPH формують глутатіонову антиперекисну систему, функцією якої є захист клітини від оксидативного стресу, а зміни активності окремих її компонентів мають важливе значення в розвитку ускладнень цукрового діабету.

У свою чергу, СОД, каталаза, ГПО та глутатіонтрансфераза не лише формують єдину ферментативну антиоксидну систему, але і безпосередньо захищають одна одну від інактивуючої дії АФК. Так, СОД, руйнуючи супероксидні радикали ($O_2^{\cdot -}$), усуває їх дію на активний центр каталази. Разом із тим, ГПО та каталаза, розкладаючи H_2O_2 , захищають СОД від окисної модифікації [22]. Тому лише кооперативна дія ферментів-антиоксидантів у клітині в умовах оксидативного стресу чи патології забезпечує не тільки максимальний прояв їх біологічної активності, але і захист від АФК. І, навпаки, порушення такої кооперативності у результаті зниження активності хоча б одного з ферментів-антиоксидантів внаслідок глікозилювання чи окисної модифікації спри-

чиняє зміни у функціонуванні всієї системи антиоксидного захисту.

Під час дослідження глутатіон-глутатіонредуктазної системи при діабеті було виявлено, що вміст відновленого глутатіону знижувався в тканині сідничного нерва на 40 % (табл. 1). Зменшення вмісту GSH може зумовлюватись посиленням його використання у відновних процесах, спрямованих на підтримання високого ступеня відновленості металів та білків, зниженням активності р-глутамілцистеїнсинтетази та суттєвими змінами активності ферментів його обміну – ГПО та ГР. Активність ГПО, селензалежного ферменту, який використовує GSH для високоефективного відновлювання H_2O_2 та органічних гідропероксидів, зменшувалась на 28 % (табл. 2). Механізм пригнічення активності ГПО може полягати в алостеричному інгібуванні ферменту, яке опосередковується NADPH, та у зниженні концентрації GSH. Оскільки при діабеті інгібується біосинтез жирних кислот в тканинах та активується ліполіз, то в клітинах різко зменшується потреба у використанні NADPH для біосинтезу жирних кислот, що призводить до зниження співвідношення $NADP^+/NADPH$ [1, 2]. Крім того, можливо, має місце зниження спорідненості ГПО із субстратом, оскільки при діабетичній нейропатії активуються процеси неферментативного глікозилювання [18].

Регенерація відновленого глутатіону здійснюється в клітинах ферментом ГР, яка використовує NADPH для відновлення окисненого глутатіону (GSSG) в GSH. Активність глутатіонредуктази в сідничному нерві при діабеті зростала на 38,3 % (табл. 2). Підвищення активності ГР є наслідком активації ферменту субстратом і коферментом, оскільки при стрептозотоциновому діабеті в сідничному нерві в парі GSH-GSSG зменшується вміст відновленого глутатіону (табл. 1), а в парі $NADP^+-NADPH$ збільшується вміст відновленого нуклеотиду, як показано нами раніше [7]. Однак виявлене зростання активності ГР є недос-

Таблиця 1 – Вміст продуктів ПОЛ і відновленого глутатіону у тканині сідничного нерва щурів за стрептозотоцинового діабету ($M \pm m$, $n=12$)

Група	Показник		
	Дієнові кон'югати, нмоль на 1 мг білка	ТБК-позитивні продукти, нмоль на 1 мг білка	Відновлений глутатіон (GSH), нмоль на 1 мг білка
Контроль	0,97±0,05	1,28±0,07	5,24±0,27
Діабет	1,96±0,07*	2,20±0,11*	3,16±0,18*
Діабет+нікотинамід	1,05±0,04**	1,43±0,12**	4,73±0,24**
Діабет+AL-1576	2,04±0,09	2,15±0,12	3,01±0,17
Діабет+унітол	1,27±0,06**	1,56±0,09	5,48±0,37**

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

** – зміни достовірні, порівняно з діабетом ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Активність ферментів антиоксидного захисту в тканині сідничного нерва щурів за стрептозотоцинового діабету ($M \pm m$, $n=12$)

Група	Показник			
	Супероксид-дисмутаза, ум. од./мг білка	Каталаза, мкмоль H_2O_2 / хв • мг білка	Глутатіон-пероксидаза, нмоль субстрату/ хв • мг білка	Глутатіон-редуктаза, нмоль субстрату/ хв • мг білка
Контроль	0,76±0,03	3,02±0,19	286,4±12,3	44,93±3,24
Діабет	0,26±0,01*	1,23±0,07*	207,4±11,6*	62,16±4,53*
Діабет+нікотинамід	0,68±0,04**	2,75±0,11**	302,0±10,9**	48,4±3,65**
Діабет+AL-1576	0,29±0,03	1,45±0,12	196,0±12,7	59,4±4,14
Діабет+унітіол	0,31±0,03	1,57±0,09	325,0±28,4**	65,8±3,36**

татнім для підтримання нормальної концентрації GSH у тканині, оскільки швидкість його використання в реакціях пероксидації значно перевищує потенційні можливості регенеративних систем.

Виявлені зміни активності ферментів антиоксидного захисту є результатом регуляторного впливу концентрації субстратів, кофакторів та ефektorних молекул і опосередковуються регуляцією експресії відповідних генів. Однак визначальним фактором змін активності ферментів антиоксидного захисту є посттрансляційні модифікації (глікозилювання, окисні модифікації). Інтенсифікація неферментативних процесів – провідна ланка метаболічних та структурно-функціональних змін в патогенезі цукрового діабету.

Введення діабетичним тваринам NAm, попередника біосинтезу нікотинамідних коферментів, знижувало інтенсивність процесів ПОЛ (табл. 1) та нормалізувало активність ферментів антиоксидного захисту в гомогенаті сідничного нерва (табл. 2). Так, вміст дієнових кон'югатів знижувався на 46,5 %, а ТБК-позитивних продуктів – на 35 % при введенні нікотинамідну. Активність СОД, каталази та ГПО, вміст яких зменшився при діабеті, під впливом нікотинамідну зростала в 2,6 раза, на 22 та на 46 % відповідно (табл. 2). Активність глутатіонредуктази залишалась високою, порівняно з контролем. Одночасно вміст відновленого глутатіону підвищувався на 50 %. Нормалізуюча дія нікотинамідну на процеси ПОЛ може реалізуватись завдяки його здатності проявляти гіпоглікемічний ефект через активацію процесів транспорту, утилізації та окиснення глюкози, а також біосинтезу та глюкозоіндукованої секреції інсуліну β -клітинами [2, 20, 21].

Крім того, введення нікотинамідну, як свідчать наші попередні дослідження, є основною передумовою сповільнення потоку вуглецю через поліоловий шлях обміну глюкози [7, 8]. Також відомо, що механізм дії нікотинамідну в β -клітинах підшлункової залози опосередковується cADP-рибозою, яка утворюється з

NAD⁺, та є вторинним посередником внутрішньоклітинного вивільнення Ca²⁺ з ендоплазматичного ретикулума і, тим самим, глюкозоіндукованої секреції інсуліну β -клітинами [23]. При цьому нікотинамід, стимулюючи біосинтез і підвищуючи вміст NAD⁺ в клітинах, забезпечує високий рівень секреції інсуліну навіть за наявності β -цитотоксичних агентів.

Зважаючи на те, що інгібітори альдозоредуктази не лише інактивують ключовий фермент поліолового шляху обміну глюкози, але також виявляють гіпотензивну дію на судини, покращуючи кровопостачання нервів, та нормалізують передачу нервового імпульсу в периферичних нервах [7, 24, 26], було доцільним дослідити їх вплив і на перекисні процеси. До того ж, ключовий фермент поліолового шляху потребує NADPH як кофактора, активований потік якого через поліоловий шлях, у свою чергу, буде змінювати глутатіоновий цикл, що призведе до зниження захисту проти АФК [26].

Введення діабетичним тваринам інгібіторів альдозоредуктази показало, що AL-1576 суттєво не впливав на вміст продуктів ПОЛ та відновленого глутатіону в тканині сідничного нерва. Вміст дієнових кон'югатів і ТБК-позитивних продуктів залишався високим, а GSH – зниженим, тоді як введення унітіолу викликало зменшення вмісту дієнових кон'югатів (на 35 %), ТБК-позитивних продуктів (на 29 %) та зростання вмісту відновленого глутатіону (на 73 %) (табл. 1). Використання AL-1576 також не спричиняло достовірних змін активності СОД, каталази, ГПО та глутатіонредуктази в тканині сідничного нерва при діабеті, тоді як унітіол активував глутатіон-глутатіонредуктазну систему антиоксидного захисту, що супроводжувалось зростанням, порівняно з контролем, активності ГПО на 57 %, ГР – на 46 % (табл. 2).

Незалежно від того, на яку ланку системи антиоксидного захисту здійснюється первинний або переважний терапевтичний вплив, стимулювальна дія NAm та унітіолу на активність ферментів АОЗ може, на наш погляд,

забезпечувати більш високу толерантність периферичної нервової системи до окиснювального стресу в умовах цукрового діабету. На основі цього високі (фармакологічні) дози НАм та помірні дози інгібіторів альдозоредуктази можуть бути рекомендовані як антиоксидні засоби у комплексній терапії при діабетичній нейропатії, а також патологічних станах, які характеризуються порушеннями вуглеводного, ліпідного обміну та інтенсифікацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів.

Одержані дані доповнюють розуміння механізмів метаболічних порушень при цукровому діабеті та сприятимуть розробці нових ефективних препаратів, дія яких буде спрямо-

вана на корекцію ферментних систем ключових ланок обміну речовин.

ВИСНОВКИ. 1. При експериментальному стрептозотоциновому діабеті спостерігаються активація процесів ПОЛ та зниження активності ферментів антиоксидного захисту, а також відновленого глутатіону, в тканині сідничного нерва щурів.

2. Нікотинамід та унітіол знижують інтенсивність процесів ПОЛ та частково нормалізують активність ферментів антиоксидного захисту у сідничному нерві щурів, тоді як вплив на ці процеси інгібітора альдозоредуктази AL-1576 менш виражений.

ЛІТЕРАТУРА

1. Великий М.М., Бурда В.А., Сергієнко О.О., Оліярник О.Д. Вплив нікотинаміду на стан киснево-транспортної системи периферичної крові при цукровому діабеті // Ліки. – 1997. – № 5. – С. 17-23.
2. Великий Н.Н., Обросова И.Т., Ефимов А.С. и др. Никотинамидные коферменты в регуляции клеточного метаболизма при разных типах диабета // Вопр. мед. хим. – 1992. – **38**, № 4. – С. 45-52.
3. Великий Н.Н., Пархомец П.К. Ферментативные аспекты регуляции внутриклеточного распределения кофакторов и метаболитов в печени крыс // Биохимия животных и человека. – К.: Наук. думка, 1987. – Вып. 2. – С. 46-58.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания диеновых гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
5. Дубинина Е.Е., Шугалей И.В. Окислительная модификация белков // Усп. совр. биол. – 1993. – **113**, вып.1. – С. 71-81.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
7. Кучмеровская Т.М., Донченко Г.В., Клименко А.П. и др. Роль ингибиторов альдозоредуктазы в развитии периферических нейропатий при экспериментальном диабете // Укр. биохим. журн. – 1997. – 70, № 3. – С. 77-82.
8. Кучмеровская Т.М., Пархомец П.К., Донченко Г.В. и др. Коррекция диабетических нейропатий с помощью ингибиторов альдозоредуктазы и пикамилаона // Вопр. мед. хим. – 1998. – **44**, вып. 6. – С. 559-564.
9. Ляйфер А.И., Солун М.Н. Система перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита и роль ее нарушений в патогенезе сахарного диабета // Пробл. эндокринологии. – 1993. – **39**, № 1. – С. 57-59.
10. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Усп. совр. биол. – 1993. – **113**, вып. 4. – С. 442-455.
11. Моин В.И. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-727.
12. Обросова И.Г., Великий Н.Н., Ефимов А.С. “Антисорбитоловые” препараты – проблемы, перспективы // Пробл. эндокринологии. – 1988. – **34**, № 1. – С. 74-77.
13. Панченко Л.Ф., Герасимов А.Н. Повышение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы печени крыс при введении фенобарбитола // Фармакол. и токсикол. – 1975. – **38**, № 3. – С. 334-339.
14. Сальникова Л.А., Мусатова Н.В., Лопатина Н.И. Перекисное окисление липидов в эритроцитах детей, больных сахарным диабетом // Вопр. мед. хим. – 1990. – **36**, № 1. – С. 39-41.
15. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.
16. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9-13.
17. Baynes J.W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes // Diabet. – 1991. – **40**. – P. 405-412.
18. Brownlee M., Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications // Diabet. Care. – 1992. – **15**, № 17. – P. 1835-1843.
19. Cotter M.A., Love A., Watt M.J. et al. Effects of natural free radical scavengers on peripheral nerve and neurovascular function in diabetic rats // Diabetol. – 1995. – **38**, № 11. – P. 1285-1294.

20. Gale A.M. Molecular mechanisms of beta-cell destruction in IDDM. The role of nicotinamide // *Horm. Research.* – 1996. – **45**, № 1. – P. 40-43.

21. Greenbaum C.J., Kahn S.E., Palmer J.P. Nicotinamide's effects on glucose metabolism in subjects at risk for IDDM // *Diabet.* – 1996. – **45**. – P. 1631-1634.

22. Kayanoki Y., Fujii J., Islam K.N. et al. The protective role of glutathione peroxidase in apoptosis induced by reactive oxygen species // *Biochem.* – 1996. – **119**, № 4. – P. 817-822.

23. Lee H.C., Graeff R., Walseth T.F. Cyclic ADP-ribose and its metabolic enzymes // *Enzymes.* – 1995. –

77, № 5. – P. 345-355.

24. Love A., Cotter M.A., Cameron N.E. Impaired myelinated fibre regeneration following freeze-injury in rats with streptozotocin-induced diabetes: involvement of the polyol pathway // *Brain Res.* – 1995. – **703**. – P. 105-110.

25. Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Farr A.L., Randal R.I. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.

26. Oates P.J. The polyol pathway – a culprit in diabetic neuropathy? // *Neurosci. Res. Comm.* – 1997. – **21**, № 1. – P. 33-40.

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС ПРИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ: ЭФФЕКТ НИКОТИНАМИДА И ИНГИБИТОРОВ АЛЬДОЗОРЕДУКТАЗЫ

З.Я. Козицкий¹, Т. М. Кучмеровская, Н.Н. Великий², И.А. Шиманский, Н.А. Кучмеровский
Львовский государственный медицинский институт им. Данила Галицкого¹
Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, Киев
Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев²

Резюме

Обнаружено, что при экспериментальном стрептозотоциновом диабете в ткани седалищного нерва крыс активизируются процессы свободнорадикальной перекисидации липидов и снижается активность ферментов антиоксидантной защиты (снижение содержания восстановленного глутатиона нерва сопровождалось уменьшением активности глутатионпероксидазы и возрастанием активности глутатионредуктазы). Введение диабетическим животным никотинамида и ингибиторов альдозоредуктазы показало, что никотинамид и унитиол снижали интенсивность процессов ПОЛ и частично нормализовали активность ферментов антиоксидантной защиты в седалищном нерве, в то время как AL-1576 существенно не влиял на эти процессы. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности применения никотинамида и унитиола в клинике лечения диабетической нейропатии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: диабетическая нейропатия, никотинамид, ингибиторы альдозоредуктазы, AL-1576, унитиол, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, антиоксидантная защита.

OXIDATIVE STRESS AT PERIPHERAL DIABETIC NEUROPATHY: EFFECT OF NICOTINAMIDE AND ALDOSE REDUCTASE INHIBITORS

Z.Ya. Kozytsky¹, T.M. Kuchmerovska, M.M. Velyky², I.O. Shymansky, M.O. Kuchmerovsky
LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY¹,
INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY BY O.V. PALLADIN OF NAS OF UKRAINE, KYIV
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOGOMOLETS, KYIV²

Summary

Free-radial lipid peroxidation processes elevation and antioxidant enzyme activities decrease in rat sciatic nerve at experimental streptozotocin diabetes were observed. The reduced glutathione content decrease was accompanied by decreased glutathione peroxidase and elevated glutathione reductase activities. The effects of nicotinamide and aldose reductase inhibitors administration on these parameters were estimated. It was demonstrated that nicotinamide and unithiol decreased POL processes intensity and partially elevated enzymatic antioxidant system in sciatic nerve, while AL-1576 was not effective. It was suggested that antioxidant action of nicotinamide and unithiol will be usefull in clinic treatment of diabetic neuropathy.

KEY WORDS: diabetic neuropathy, nicotinamide, aldose reductase inhibitors, AL-1576, unithiol, diene conjugates, malondialdehyde, antioxidant defence.

Отримано 15.05.2002 р.

Адреса для листування: Т.М. Кучмеровська, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна.

МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ БІОГЕННИХ АМІНІВ ТА ЛІПІДІВ У ХВОРИХ З ЕКЗОГЕННО ЗУМОВЛЕНИМИ НЕВРОЛОГІЧНИМИ НАСЛІДКАМИ (ЧЕРЕПНО-МОЗКОВА ТРАВМА, НЕЙРОІНФЕКЦІЯ, ІОНІЗУЮЧЕ ВИПРОМІНЮВАННЯ)

Т.П. Бойко, В.О. Коршняк, Л.С. Костюковська
ІНСТИТУТ НЕВРОЛОГІЇ, ПСИХІАТРІЇ ТА НАРКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Вивчено екскрецію адреналіну, норадреналіну, концентрацію серотоніну, холестеролу та його ефірів у крові хворих з екзогенно зумовленими неврологічними наслідками (черепно-мозкова травма, нейроінфекція, іонізуюче випромінювання). Достовірне зростання концентрації серотоніну в крові відзначено в усіх трьох групах. Підвищення екскреції адреналіну виявлено у двох групах хворих – з наслідками черепно-мозкової травми та іонізуючого випромінювання. Група з наслідками нейроінфекцій характеризувалася зниженням екскреції адреналіну і норадреналіну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: біогенні аміни, ліпіди, черепно-мозкова травма, нейроінфекція, іонізуюче випромінювання.

ВСТУП. До захворювань нервової системи, які часто зустрічаються та пов'язані з екзогенними чинниками, належать черепно-мозкові травми (ЧМТ), нейроінфекції (НІ), іонізуюче випромінювання (ІВ) та їх віддалені наслідки.

Вивчення клінічних форм та метаболічних особливостей патологічних станів у хворих з цією патологією є актуальною проблемою клінічної неврології.

Метою даного дослідження було визначити рівень біогенних амінів, які забезпечують основні регуляторні процеси в організмі, та ліпідів у хворих з екзогенно зумовленими чинниками, виявити метаболічні порушення залежно від нозології.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 72 хворих віком від 21 до 45 років з неврологічними порушеннями, викликаними впливом екзогенних факторів тривалістю від 2 до 16 років. Усіх пацієнтів було поділено на 3 групи: перша – 32 хворих (28 чоловіків та 4 жінки) з наслідками ЧМТ; друга – 19 пацієнтів (14 жінок, 5 чоловіків), які мали в анамнезі НІ; третя група – 21 хворий (20 чоловіків, 1 жінка) з наслідками дії малих доз ІВ у результаті аварії на ЧАЕС.

Вивчення концентрації холестеролу та його ефірів у крові проводили за методом Фольча після попередньої екстракції ліпідів спирто-ефірною сумішшю (3:1), розділення загальних ліпідів на фракції за допомогою тонкошарової

© Т.П. Бойко – к.б.н., В.О. Коршняк – к.м.н., Л.С. Костюковська, 2002.

хроматографії на пластинках "Сілуфол" фірми "Merck" з використанням одомірної хроматографії в системі розчинників: гексан, діетиловий ефір, оцтова кислота (75:25:2). Плями холестеролу та його ефірів екстрагували з хроматограм хлороформом, проводили кольорову реакцію з оцтовим ангідридом і їх кількісне визначення спектрофотометрично при довжині хвилі 630 нм [4].

Екскрецію катехоламінів – адреналіну і норадреналіну – визначали триоксіндоловим флуориметричним методом [1]. Аміни адсорбували гідроокисом алюмінію при рН=8,5; елюювали сірчаною кислотою (0,05 моль/л); окиснення амінів здійснили йодом при різних значеннях рН: адреналіну – при рН=4,2, норадреналіну та адреналіну – при 6,4. Флуоресценцію вимірювали з використанням вузькосмугових інтерференційних світлофільтрів. Довжина хвилі збуджувального світла – 405 нм, інтенсивність флуоресценції вимірювали при довжині хвилі 536 нм.

Концентрацію серотоніну в крові визначали флуориметричним методом, що полягає у вимірюванні флуоресценції продукту конденсації серотоніну з нінгідрином після депротейнізації крові хлорною кислотою (1 моль/л) у співвідношенні 1:1, адсорбції аміну на карбоксиметилцелюлозі, елюції в градієнті рН та іонної сили буферних розчинів.

Реєстрацію флуоресценції проводили із застосуванням первинного та вторинного

інтерференційних світлофільтрів з довжиною хвилі 365 та 536 нм відповідно [5].

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали загальноприйнятими методами з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Концентрацію серотоніну в крові та екскрецію катехоламінів із сечею у хворих з екзогенно зумовленими неврологічними наслідками представлено в таблиці 1.

Відомості, одержані при обстеженні даних груп хворих, свідчать про те, що екскреція катехоламінів та її зміна в різних групах хворих мають певну специфіку (табл. 1). Слід зазначити, що у віддаленний період після впливу іонізуючого випромінювання виявляється підвищена екскреція адреналіну. Подібну картину виявлено і в групі хворих з віддаленими наслідками ЧМТ, тоді як у групі пацієнтів, які перенесли НІ, спостерігалось зниження екскреції як адреналіну, так і норадреналіну. На фоні дисбалансу катехоламінів у всіх хворих виявлено збільшення концентрації серотоніну в крові, найбільш виражене в пацієнтів після перенесеної раніше нейроінфекції.

Аналіз досліджень показав, що загальними моментами вказаних патологічних процесів є дезінтеграція функціонування регуляторних механізмів та системний характер неврологічних порушень, що спотворює, а в ряді випадків робить неможливим формування як генералізованої адаптивної реакції, так і поточної адаптогенної метаболічної корекції обмінних процесів [3].

Концентрацію холестеролу та його ефірів представлено в таблиці 2.

Загалом концентрація холестеролу та його ефірів у крові хворих була в межах вікової норми. Разом із тим, розподіл холестеролу між його окремими фракціями мав характерні особливості залежно від екзогенних чинників, що призвели до неврологічних порушень.

У групі хворих з наслідками ЧМТ при дещо зниженому рівні загального холестеролу в крові та низькою, порівняно з нормою, концентрацією його ефірів зменшувалось співвідношення ефіри холестеролу/вільний холестерол, що є несприятливим фактором розвитку ліпідемій.

У хворих з наслідками перенесених НІ виявлено найнижчий з усіх обстежених груп пацієнтів рівень загального холестеролу в крові, але при цьому спостерігалось найбільше, порівняно з іншими групами, зниження концентрації ефірнозв'язаної форми холестеролу, що має негативні наслідки для утилізації холестеролу та його накопичення в стінках судин.

У пацієнтів з неврологічними порушеннями, причиною яких була дія іонізуючого випромінювання визначено найбільший вміст загального холестеролу та фракції вільного холестеролу в крові. І хоча частка ефірів холестеролу перебувала на нормальному рівні, підвищення концентрації холестеролу, що циркулює в крові, є фактором ризику виникнення атеросклеротичних уражень судин.

Таким чином, незважаючи на незначні зміни концентрації холестеролу та його ефірів у крові обстежених хворих з екзогенно зумовленими неврологічними наслідками, виявлені тенденції в цілому при подальшому перебізі захворювання можуть бути основою розвитку ліпідемій, зокрема холестеринозу та атеросклерозу.

Таблиця 1 – Концентрація серотоніну в крові та екскреція катехоламінів із сечею у хворих з екзогенно зумовленими неврологічними наслідками

Групи обстежених	Адреналін, нмоль/добу	Норадреналін, нмоль/добу	Серотонін, мк моль/л
Практично здорові, n=15	33,3±2,7	157,5±10,7	1,49±0,09
Неврологічні наслідки:			
черепно-мозкової травми, n=32	48,6±3,6*	138,3±10,2	2,59±10,2**
нейроінфекцій, n=19	16,8±2,1*	98,7±7,6*	3,11±0,33**
іонізуючого випромінювання, n=21	53,8±4,1*	142,3±9,8	2,32±0,27**

Примітка. * – p<0,05, ** – p<0,01, порівняно з групою практично здорових.

Таблиця 2 – Концентрація холестеролу (ммоль/л) у хворих з екзогенно зумовленими неврологічними наслідками

Групи обстежених	Холестерол		
	Загальний	Вільний	Ефіри
Практично здорові, n=15	4,79±0,43	1,33±0,14	3,35±0,29
Неврологічні наслідки:			
черепно-мозкової травми, n=32	4,15±0,28	1,33±0,15	2,82±0,18
нейроінфекцій, n=19	3,82±0,38	1,04±0,16	2,78±0,22
іонізуючого випромінювання, n=21	4,94±0,56	1,45±0,15	3,50±0,38

Резюмуючи одержані дані, можна відмітити таке: групи хворих з неврологічними наслідками екзогенних впливів розрізнялися з точки зору виявлених метаболічних порушень. У хворих з наслідками ЧМТ спостерігались різноманітні дискатахоламінемії, які були представлені як гіпо- (25 %), так і гіперадреналінурією (50 %) та їх поєднанням. Рівень холестеролу в крові цих хворих відповідав верхній межі норми.

Наслідками впливу іонізуючого випромінювання були дисбаланс між гормональним та медіаторним компонентами симпато-адреналової системи, активація гормонального (35 %) її ланцюга та пригнічення медіаторного (45 %). У результаті екскреція адреналіну в цій групі зростала, норадреналіну – дещо знижувалася. Збільшення частки адреналіну в сумі катехоламінів за рахунок посиленого синтезу в надниркових залозах та зростання його екскреції можуть свідчити про наявність хронічної стресової ситуації в організмі. Вміст холестеролу в крові цієї групи хворих був дещо вищим за вікову норму.

У хворих після перенесеної НІ переважав гіпометаболічний тип змін активності симпато-адреналової системи і, як результат, знижувалась швидкість екскреції адреналіну та норадреналіну. У цих хворих виявлено підвищення вмісту серотоніну у крові. Пацієнти даної групи також характеризувалися найбільш низькими значеннями концентрації холестеролу у крові з усіх обстежених.

Групи хворих з неврологічними наслідками екзогенних впливів розрізнялися з точки зору виявлених метаболічних порушень.

Наслідком впливу ІВ був дисбаланс між гормональним та медіаторними компонентами симпато-адреналової системи, яка частіше проявлялася активацією її гормонального ланцюга (35 %), що можна визначити як стан хронічного стресу в стадії толерантності. Про наявність хронічної стресової ситуації в організмі може свідчити і збільшення частки адреналіну в сумі екскретованих катехоламінів.

Проте у частини хворих (28 %) виявлено низький рівень екскреції адреналіну та норадреналіну і відсутність мобілізації катехоламінів у відповідь на фізичне навантаження, що може свідчити про перехід хронічного стресу у фазу виснаження.

Забій та (або) струс внутрішніх відділів мозку призводить до прямого пошкодження нейрорегуляторних механізмів у початковий (гострий) період після мозкової травми, у віддалений період, залежно від важкості пошкоджень, спостерігається або структурна деградація тканини мозку, або компенсація

порушених функцій за рахунок репарації пошкоджених структур чи переключення функціонального навантаження на інші структури та провідні шляхи мозку. Враховуючи характер структурних та метаболічних змін, провідними синдромами у групі хворих з наслідками ЧМТ є судинні порушення (цефалгії, судинно-вегетативні кризи, вестибулярні симптоми, астеничні та емоційні розлади).

Таке метаболічне перегрупування не є специфічним тільки для гострого періоду ЧМТ, його можна розглядати як неспецифічну стрес-реакцію організму на надсильний подразник, у результаті якого спостерігається активація основних адаптивних систем організму: симпато-адреналової та гіпофізарно-надниркової. У подальшому на більш пізніх етапах перебігу ЧМТ формується дисбаланс в адаптивних системах: частина змін нормалізується, деякі порушення зберігаються у віддаленому періоді, а саме: підвищений рівень катехоламінів, серотоніну та ліпідів, що циркулюють у крові. Такі диспропорції реагування на підвищені навантаження, несприятливі емоційні ситуації та інші негативні впливи призводять до неможливості адекватного реагування на стресорні фактори.

Є експериментальні та клінічні дані, які підтверджують участь серотонінергічних механізмів у патогенезі цереброваскулярних захворювань, особливо у зв'язку із здатністю серотоніну викликати виражену вазоконстрикцію, причому більший пресорний ефект спостерігається відносно церебральних судин. Механізм такого судинозвужувального впливу може бути реалізований шляхом безпосередньої дії цього аміну на серотонінові рецептори судин, а також опосередковано через механізми нейрогормональної регуляції. При порушеннях мозкового кровообігу може змінюватися концентрація серотоніну в периферичній крові за рахунок його депонування тромбоцитами. Високий вміст серотоніну в крові є несприятливим фактором, який може викликати порушення тону судин, проникності судинної стінки, зниження кровотоку та ішемізацію тканин [2].

ВИСНОВОК. У хворих з екзогенно зумовленими неврологічними наслідками (черепно-мозкова травма, нейроінфекція, іонізуюче випромінювання) спостерігається достовірне зростання концентрації серотоніну в крові, у хворих з наслідками черепно-мозкової травми та іонізуючого випромінювання має місце підвищення екскреції адреналіну, а з наслідками нейроінфекцій – зниження екскреції адреналіну і норадреналіну.

Література

1. Бару А.М., Бойко Т.П. Методика исследования катехоламинов с повышением специфичности триоксииндоловой процедуры // В кн.: Актуальные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии. – М.: Наука, 1979. – С. 126-127.
2. Бельская Г.Н., Василенко Ф.И., Попов Г.К. и др. Изменение содержания серотонина в крови и цереброспинальной жидкости у больных с церебральным инсультом // Неврол. журн. – 1999. – 4, № 6. – С. 22-24.
3. Дубенко Е.Г., Григорова И.А., Морозова О.Г., Некрасова Н.А. Когнитивная дисфункция и вегетосоматическая манифестация у больных в отдаленном периоде закрытой черепо-мозговой травмы // Укр. вісн. психоневрол. – 2001. – № 3 (28). – С. 80-82.
4. Количественное определение холестерина в органах и тканях // В кн.: Методы биохимических исследований. – Ленинград, 1982. – С. 70-71.
5. Костюковська Л.С. Удосконалений метод визначення серотоніну крові у хворих в клінічній неврології та психіатрії // Укр. вісн. психоневрол. – 1993. – № 1. – С. 51-54.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА БИОГЕННЫХ АМИНОВ И ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ С ЭКЗОГЕННО ОБУСЛОВЛЕННЫМИ НЕВРОЛОГИЧЕСКИМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ (ЧЕРЕПНО-МОЗГОВАЯ ТРАВМА, НЕЙРОИНФЕКЦИЯ, ИОНИЗИРУЮЩЕЕ ИЗЛУЧЕНИЕ)

Т.П. Бойко, В.А. Коршняк, Л.С. Костюковская
ИНСТИТУТ НЕВРОЛОГИИ, ПСИХИАТРИИ И НАРКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучены экскреция адреналина, норадреналина, концентрация серотонина, холестерина и его эфиров в крови больных с экзогенно обусловленными неврологическими последствиями (черепно-мозговая травма, нейроинфекция, ионизирующее излучение). Достоверное возрастание концентрации серотонина в крови отмечено во всех трех группах. Повышение экскреции адреналина выявлено в двух группах больных – с последствиями черепно-мозговой травмы и ионизирующего излучения. Группа с последствиями нейроинфекций характеризовалась снижением экскреции адреналина и норадреналина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биогенные амины, липиды, черепно-мозговая травма, нейроинфекции, ионизирующее излучение.

BIOGENIC AMINE AND LIPID METHABOLISM CHANGES IN THE PATIENTS WITH EXOGENICALLY CAUSED NEUROLOGICAL CONSEQUENCES (HEAD INJURY, NEUROINFECTION, IONIZING RADIATION)

T.P. Boyko, V.A. Korshnyak, L.S. Kostiukovskay
INSTITUTE OF NEUROLOGY, PSYCHIATRY AND NARCOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

Adrenaline and noradrenaline excretion, serotonin, concentration of cholesterol and its ethers in blood was investigated in the patient with exogenically caused neurological consequences (head injury, neuroinfection, ionizing radiation). Increasing of serotonin level in all three groups was revealed. Growth of adrenaline excretion was shown in two groups of patients with head injury and ionizing radiation consequences. The group with neuroinfection consequences was characterized by lowering of the adrenaline and noradrenaline excretion.

KEY WORDS: biogenic amines, lipids, head injury, neuroinfection, ionizing radiation.

Отримано 26.06.2002 р.

Адреса для листування: Т.П. Бойко, Інститут неврології, психіатрії і наркології АМН України, вул. Акад. Павлова, 46, Харків, 61068, Україна.

ГАНГЛІОЗИДИ Й АКТИВНІСТЬ АДЕНІЛАТЦИКЛАЗНОЇ СИСТЕМИ ПРИ РІЗНОМУ ТИРЕОЇДНОМУ СТАТУСІ ОРГАНІЗМУ

Т.С. Саатов, Г.С. Акрамова, Г.У. Усманова

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ АКАДЕМІЇ НАУК РЕСПУБЛІКИ УЗБЕКИСТАН, ТАШКЕНТ, УЗБЕКИСТАН

На моделі експериментального гіпо- і гіпертиреозу вивчено гангліозидний склад плазматичних мембран печінки і головного мозку щурів. Показано виражені зміни гангліозидного складу плазматичних мембран досліджених органів. Установлено, що гангліозид GM3 чинить стимулювальний вплив на активність аденілатциклази в плазматичних мембранах мозку і печінки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпертиреоз, гіпотиреоз, плазматичні мембрани, гангліозиди, аденілатциклаза.

ВСТУП. У результаті численних досліджень, проведених упродовж останніх двох десятиліть, було встановлено, що глікофінголіпіди (гангліозиди, сульфатиди, цереброзиди) є найважливішими біологічними ефекторами, регуляторами і медіаторами, які беруть участь практично в усіх важливих біологічних процесах (імунна відповідь, передача нейрональної інформації, регуляція судинного і м'язового тону, гемостаз, запалення тощо), що відбуваються в організмі, й біохімічних реакціях, які перебігають у клітинах тварин і людини [4]. Як вторинні месенджери вони передають всередину клітини різні зовнішні сигнали, а також самі є міжклітинними медіаторами [3]. Установлено, що гангліозиди беруть участь у процесах росту, диференціювання і розпізнавання клітин, міжклітинних взаємодіях, а також міжмембранній передачі сигналу, та є антигенами й активними імунодуляторами [6].

Комбінація різних класів гангліозидів і порядок їх розташування визначають специфічність мембранної поверхні. Установлено, що гангліозиди, беручи участь у процесах клітинного впізнавання, мають велике значення в рецепції гормонів і ряду біологічно активних сполук. Відомо, що вони відіграють основну роль у формуванні глікокаліксу, який забезпечує взаємодію клітин із зовнішнім середовищем і такими регулювальними молекулами, як гормони [5]. Тому, очевидно, зрозуміти молекулярні основи впливу гормонів, зокрема тиреоїдних, на

функціональну активність клітин неможливо без чіткого уявлення про природу гормонідукованих фізико-хімічних, а отже, і структурних перебудов у мембранному комплексі, роль гангліозидів у якому важко переоцінити.

Важливе значення для нормального функціонування плазматичних мембран і реалізації ефекту гормонів мають фізичний стан глікофінголіпідів, рідинність вуглеводневого ланцюга, а також обмінна активність жирних кислот у ліпідному бішарі [9, 10]. Будучи надзвичайно мобільною структурою, гангліозиди безперервно змінюють форму, швидко відновлюють склад і вміст залежно від дії факторів внутрішнього і зовнішнього середовища. Процеси ресинтезу, гідролізу й окиснення гангліозидів підтримують динамічну рівновагу обміну як у мембрані, так і всередині клітини. Порушення цієї рівноваги лежить в основі багатьох патологічних процесів. Крім того, чимало гормонів, зокрема тироксин, реалізують свій ефект за рахунок зміни інтенсивності обміну ліпідів мембран, з якими тісно пов'язана активність мембранозв'язаних ферментів і транспортних білків. У представленій роботі наведено результати дослідження з вивчення впливу різного рівня тиреоїдних гормонів на вміст гангліозидів у плазматичних мембранах печінки і мозку щурів, а також вивчення активності аденілатциклази під дією надлишку і дефіциту тиреоїдних гормонів в організмі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на статевозрілих безпородних білих

щурах-самцях. Тварин поділили на такі експериментальні групи: інтактні; щури з експериментальним гіпертиреозом; щури з експериментальним гіпотиреозом. Експериментальний гіпертиреоз викликали внутрішньочеревним введенням тваринам упродовж 6 днів тироксину в дозі 100 мкг/100 г маси тіла; гіпотиреоз – оперативним видаленням щитоподібної залози. Критеріями оцінки тиреоїдного статусу були рівень тиреоїдних гормонів у сироватці крові й зміна маси тіла щура. Тварин усіх груп декапітували під ефірним наркозом і видаляли тканини печінки та головного мозку для подальших досліджень.

Гангліозиди з тканини печінки і мозку екстрагували за методом Folch у модифікації Бергельсона. Очищення виділених гангліозидів проводили шляхом хроматографії на сефадексі G-25 і ДЕАЕ-целюлозі, потім піддавали діалізу і ліофілізували. Про кількість виділених гангліозидів судили за вмістом у них сіалової кислоти, концентрацію якої визначали перйодат-резорциновим методом Jordian.

Розподіл гангліозидів і їх фракцій здійснювали методом тонкошарової хроматографії за методом Дятловицької з деякими власними модифікаціями. Ідентифікацію виділених фракцій проводили шляхом порівнювання значень RF отриманих нами фракцій і фракцій гангліозидів мозку бика ("Serva"), а також комерційних фракцій.

Очищені плазматичні мембрани з тканин печінки виділяли методом Ray в модифікації В. Воейкова, а з тканин мозку – методом Krishnan і Balagan. Про чистоту виділених мембран судили за підвищенням активності маркерних ферментів 5'-нуклеотидази і Na^+/K^+ -АТФази в процесі очищення. Активність аденілатциклази визначали за методом J. Sutherland. Про активність ферменту судили за кількістю цАМФ, що утворився.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані результати показали, що надлишок тиреоїдних гормонів в організмі призводить до зростання

вмісту сумарних гангліозидів в печінці і головному мозку, причому найбільше – в тканині печінки (до 80 %). У тиреоїдектомованих щурів виявлено зниження рівня сумарних гангліозидів (табл. 1-2). Як свідчать отримані результати, вміст гангліозидів у тканинах органів щурів тісно пов'язаний із тиреоїдним статусом організму і ступінь зміни рівня гангліозидів залежить від ступеня реакції органа на дію тиреоїдних гормонів. Очевидно, виявлені нами зміни в гангліозидному складі при тиреоїдній патології є однією з головних причин порушення транспортних і рецепторних властивостей мембран клітин [1, 2].

У таблиці 1 наведено дані дослідження гангліозидного спектра в тканині печінки щурів. Як видно з таблиці, приблизно половину всіх гангліозидів печінки становить фракція GM3. Моносіалогангліозиди GM1, GM2 складають, відповідно, 19 і 14 % від суми гангліозидів печінки. Печінка, як відомо, споріднена з тиреоїдними гормонами, швидко й у великій кількості накопичуючи їх у своїй паренхімі, й концентрація гормонів у цій тканині в багато разів вища, порівняно з іншими органами. Тому і біохімічні ефекти гормонів повинні реалізуватись тут більшою мірою, що підтверджують отримані нами результати.

У печінці щурів з видаленою щитоподібною залозою рівень ди- і моносіалогангліозидів був значно меншим, ніж у інтактних тварин, проте вміст фракції GM1 на 40 % перевищував контрольний рівень. Підвищення концентрації тиреоїдних гормонів в організмі викликало зростання вмісту всіх фракцій, при цьому найбільше реагували на дію гормонів фракції GD1b, GD1a і GM3, їх рівень був у 2 рази вищим, ніж у контролі. Вміст решти фракцій перевищував контрольні значення на 70-75 %.

У таблиці 2 наведено дані про вивчення дії тиреоїдних гормонів на вміст гангліозидів у мозку щурів. Відмітною особливістю мозку є те, що вплив тиреоїдних гормонів тут відбувається без зміни споживання кисню. Проте результати досліджень останніх років дозво-

Таблиця 1 – Вміст гангліозидів у печінці щурів при різних концентраціях тиреоїдних гормонів в організмі (мкг СК/1 г тканини; $M \pm m$; $n=8$)

Фракції гангліозидів	Контроль	Тиреоїдектомія	Гіпертиреоз
GQ	Сліди	Сліди	Сліди
GT1	50,5±6,1	26,2±2,4	86,1±7,1
GD1b	14,2±1,3	5,3±0,8	29,6±3,4
GD1a	71,7±6,2	24,7±1,9	110,5±10,2
GM1	93,1±9,3	131,1±10,2	162,6±15,5
GM2	67,6±6,4	69,4±6,9	117,5±12,7
GM3	202,3±21,4	236,9±2,2	363,7±30,2
Сумарна фракція	499,4±46,7	463,6±51,3	870,0±74,6

ляють стверджувати, що механізм дії гормонів щитоподібної залози на нервову систему дуже складний і є результатом сумування таких компонентів, як зміна тканинного метаболізму, функцій периферичних органів і тканин.

У тканині мозку дефіцит тиреоїдних гормонів в організмі призводить до зниження рівня всіх фракцій гангліозидів, у структурі яких міститься більше двох залишків сіалових кислот, і накопичення фракції моносіалогангліозидів. Аналіз отриманих результатів показує, що при дефіциті в організмі тиреоїдних гормонів у тканині печінки відбувається інтенсивна деградація складніших гангліозидів з одночасним накопиченням фракцій, які містять у своїй структурі лише один залишок сіалової кислоти.

Однак, можливо, їх накопичення в мозку тиреоїдектомованих щурів є результатом гальмування синтезу на рівні моносіалогангліозидів, при якому внаслідок зниження активності глікозилтрансферазної системи порушується процес нарощування олігосахаридного ланцюга гангліозидів [8].

У тканині мозку щурів з гіпертиреозом відзначено збільшення вмісту всіх без винятку фракцій гангліозидів, причому мінімальний приріст спостерігається у фракціях три- і дисіалогангліозидів.

Як було сказано вище, структурна організація мембран тісно пов'язана з фізико-хімічними властивостями і складом основних компонентів мембран – білків і ліпідів. У функціонуванні мембран велику роль відіграють ліпід-білкові взаємодії, серед них важливе місце посідають ферменти [1].

Аденілатциклаза належить до мембрано-з'язаних ферментів, які мають важливе зна-

чення в передачі сигналів гормональної і негормональної природи всередину клітини [7]. Численними дослідженнями показано, що необхідною умовою реалізації гормонального ефекту в клітині є взаємодія гормону із специфічними рецепторами. Для більшості гормонів, дія яких опосередковується цАМФ – універсальним посередником, початковим етапом є інгібування аденілатциклази – ферменту, що каталізує утворення цАМФ з АТФ.

Раніше співробітниками нашої лабораторії та лабораторії біохімії гормонів було виявлено зміну активності аденілатциклазної системи при різних концентраціях тиреоїдних гормонів в організмі. У зв'язку з цим, наступним етапом наших досліджень було вивчення впливу гангліозидів і їх окремих фракцій на активність аденілатциклази.

Для цього 25 мкг сумарних гангліозидів, а також фракції моносіалогангліозидів, які найбільше реагують на дію гормону, інкубували з 100 мкг плазматичних мембран.

Як видно з таблиці 3, гангліозиди чинять стимулювальний ефект на активність аденілатциклази. Отримані результати свідчать про високу стимулювальну дію гангліозидів на активність аденілатциклази як у печінці, так і в мозку, причому найбільший ефект мала фракція GM3.

ВИСНОВОК. Рівень тиреоїдних гормонів в організмі суттєво впливає на вміст гангліозидів у плазматичних мембранах щурів з експериментальним гіпо- і гіпертиреозом. Виявлено роль моносіалогангліозидів, особливо GM3, у стимуляції активності гормонозалежної аденілатциклази.

Таблиця 2 – Вміст індивідуальних гангліозидів у мозку щурів при різних концентраціях тиреоїдних гормонів в організмі (мкг СК/1 г тканини; M±m; n=8)

Фракції гангліозидів	Контроль	Тиреоїдектомія	Гіпертиреоз
GQ	375,2±29,5	192,4±17,9	469,2±32,8
GT1	355,6±25,6	101,4±11,3	411,4±30,9
GD1b	158,8±11,4	57,2±6,7	173,4±30,9
GD1a	823,2±67,6	741,0±59,6	1016,0±88,2
GD2	163,4±15,4	78,0±8,8	197,2±18,9
GD3	114,8±12,1	43,0±5,3	153,0±12,4
GM1	229,6±19,4	426,2±30,1	368,2±43,6
GM2	249,2±19,4	317,2±68,8	326,0±28,7
GM3	341,6±24,2	751,4±68,8	434,6±34,3
Сумарна фракція	2809,7±86,9	2607,8±154,6	3549,6±289,2

Таблиця 3 – Вплив гангліозидів на активність аденілатциклази в мембранах печінки і мозку щурів (пмоль цАМФ/мг білка · хв; n=6)

Органи	Базальна активність	+сумарні гангліозиди	+GM1	+GM3
Печінка	116,0±10,6	345,0±1,0	310,0±29,30	524,0±45,5
Мозок	325,0±13,5	380,0±35,5	375,0±35,0	680,0±54,0

ЛИТЕРАТУРА

1. Abney Z.R., Owicki Z.C. Theories of protein – lipid interactions in membranes // *Progr. Protein-Lipid Interact.* – Amsterdam, 1985. – Chapt.1. – 60 p.
2. Axelrod J., Hirata F. Lipids and transduction of biological signals through membranes // *Progr. Biochem. Res.* – 1988. – № 5. – P. 1-12.
3. Cross G.A. Glycolipid anchoring of plasma membrane proteins // *Ann. Rev. Cell, Biol. Palo Alto (Calif).* – 1990. – **6**. – P.1-39.
4. Curatolo W. The physical properties of glycolipids // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1987. – **906**, № 2. – P. 111-136.
5. Gall E.W., Edelman G.V. Cell surface modulation and transmembrane control. – New York, 1987. – P. 43-58.
6. Hakomori S.I. Role of glycolipids in cell recognition and regulation of cell growth // *J. Neurochem.* – 1989. – **52**. – P. 4-7.
7. Marx J.L. Tracing hormone action in cell // *Sci.* – 1989. – **245**, № 4925. – P. 1446-1447.
8. Pasquini I.M., Guarna M.M., Besio-Moreno M.A., Iturregeu M.F. Inhibition of the synthesis of glycosphingolipids affects of membrane // *J. Neurochem. Res.* – 1989. – **22**, № 3. – P. 289-296.
9. Reed R.A., Shipley G.G. Effect of chain unsaturation on the structure and thermotropic properties of galactocerebrosides // *Biophys. J.* – 1989. – **55**, № 2. – P. 281-292.
10. Sackman E., Duwe H.P., Zeman K., Zieker A. Elasticity, structure and dynamics of cell plasma membranes and biological functions // *Struct. and Dyn. Nucl. Acids, Proteins and Membranes. Proc. Int. Symp.* – New York-London, 1986. – P. 251-267.

ГАНГЛИОЗИДЫ И АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ТИРЕОИДНОМ СТАТУСЕ ОРГАНИЗМА

Т.С. Саатов, Г.С. Акрамова, Г.У. Усманова

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ АКАДЕМИИ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН, ТАШКЕНТ, УЗБЕКИСТАН

Резюме

На модели экспериментального гипо- и гипертиреоза изучен ганглиозидный состав плазматических мембран печени и головного мозга крыс. Показаны выраженные изменения ганглиозидного состава плазматических мембран исследованных органов. Установлено, что ганглиозид GM3 оказывает стимулирующее влияние на активность аденилатциклазы в плазматических мембранах мозга и печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипертиреоз, гипотиреоз, плазматические мембраны, ганглиозиды, аденилатциклаза.

GANGLIOZIDES AND ACTIVITY OF ADENYLATCYCLASE SYSTEM AT DIFFERENT THYREOID STATUS OF THE ORGANISM

T.S. Saatov, H.S. Akramova, H.U. Usmanova

INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF AS OF UZBEKISTAN, TASHKENT, UZBEKISTAN

Summary

Ganglioside contents of plasmatic membranes of the rats' liver and brain was studied on the model of experimental hypo- and hyperthyreosis. There were shown the expressed changes of ganglioside contents of plasmatic membranes of the investigated organs. Ganglioside GM3 was established to have stimulating effect on the activity of adenylatcyclase in the plasmatic membranes of the brain and liver.

KEY WORDS: hyperthyreosis, plasmatic membranes, gangliosides, adenylatcyclase.

Отримано 06.06.2002 р.

Адреса для листування: Т.С. Саатов, Інститут біохімії АН Республіки Узбекистан, пр. Х.Абдуллаєва, 56, Ташкент, 700143, Узбекистан.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПАРАЛЕЛІ МІЖ СТАНОМ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДНИМ ЗАХИСТОМ Й ОСОБЛИВОСТЯМИ УРАЖЕНЬ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ ОРГАНІЗМУ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

М.С. Гнатюк, Л.Т. Виклюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Комплексом біохімічних, морфологічних і морфометричних методів вивчено особливості структурно-функціональних змін порожньої кишки білих щурів при отруєнні блідою поганкою. З'ясовано, що дія на організм вказаної отрути супроводжується вираженою структурною перебудовою досліджуваного органа, а також посиленням процесів ліпопероксидації і погіршенням антиоксидного захисту. Встановлено сильні корелятивні зв'язки між ступенем змін вищевказаних процесів і вираженням патоморфологічних уражень стінки порожньої кишки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бліда поганка, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидна система, порожня кишка.

ВСТУП. Отруєння шапинковими грибами часто зустрічаються в Україні. Вони є причиною глибоких порушень гомеостазу та важких розладів у потерпілих осіб і нерідко закінчуються смертю. Найважчі розлади більшості систем організму виникають при отруєннях блідою поганкою [3].

Серед частин тонкої кишки порожньої кишки належить важлива роль у функції травлення. Цей відділ також досить часто втягується в патологічний процес. Разом із тим, взаємозв'язки між особливостями уражень порожньої кишки та станом перекисного окиснення ліпідів й антиоксидного захисту організму при отруєннях блідою поганкою не вивчалися.

Метою даної роботи було дослідити стан перекисного окиснення ліпідів й антиоксидного захисту та їх зв'язок з ураженням порожньої кишки при дії на організм токсинів блідої поганки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Комплексом біохімічних, морфологічних і морфометричних методів досліджено зміни в порожній кишці 43 білих статевозрілих щурів-самців, яких було поділено на дві групи. 1-а група (контрольна) включала 19 здорових інтактних експериментальних тварин, які перебували у звичайних умовах віварію, 2-а – 24 щури, отруєних блідою

© М.С. Гнатюк – д.м.н., проф., Л.Т. Виклюк – к.б.н., 2002.

поганкою. Отруєння тварин здійснювали внутрішньочеревним введенням екстракту блідої поганки [3]. Гриби очищали від домішок, промивали проточною водою та гомогенізували. До гомогенізату додавали метанол у ваговому співвідношенні 1:10 (гриби : метанол), кип'ятили 30 хв, фільтрували за допомогою водоструминного насоса. Потім метанол випаровували до отримання маслянистої краплі, яку розводили ізотонічним розчином хлориду натрію з таким розрахунком, щоб доза токсину, яка вводиться в організм, містилася в 1 мл. Відсутність метанолу в робочому розчині екстракту підтверджували хроматографічно. Дослідних тварин виводили з експерименту через 24 год від його початку шляхом швидкої декапітації.

Вирізані шматочки порожньої кишки фіксували в 10 % розчині формаліну, обробленому за Ліллі при рН 7,2-7,4, а частину матеріалу – в 1 % розчині оцтової кислоти на 96° холодному етанолі, рідинах Карнуа, Ценкера, 96° етиловому спирті. Після зневоднення матеріал заливали в парафін. Парафінові зрізи фарбували гематоксилином та еозином за Ван-Гізоном, Маллорі, Вейгертом, реактивом Шіффа, альціановим синім за модифікованим методом Грама, за Гримеліусом, Браше, Мак-Манусом-Хочкісом [8].

Проводили морфометричні виміри порожньої кишки, враховуючи при цьому висоту

покривних епітеліоцитів, діаметр їхніх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення в них, відносний об'єм уражених епітеліоцитів, зовнішній і внутрішній діаметри дрібних артерій, товщину медії, індекс Вогенворта [9]. Морфометрію артерій здійснювали за методикою С.В. Шорманова [9].

Стан антиоксидного захисту оцінювали за динамікою змін активності супероксиддисмутази (СОД) [7] і каталази [5], активність процесів ліпопероксидації оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) у стінці тонкої кишки [2].

Для більш глибокого вивчення особливостей структурних змін у стінці порожньої кишки та з'ясування при цьому причинно-наслідкових відношень визначали взаємозв'язки між досліджуваними морфометричними параметрами та показниками перекисного окиснення ліпідів і антиоксидного захисту. При цьому застосовували кореляційний аналіз із визначенням коефіцієнта (r) парної кореляції [1]. Силу зв'язку оцінювали за 4 ступенями: сильний ($r=0,7-0,9$), значний ($r=0,5-0,7$), помірний ($r=0,3-0,5$), слабкий ($r<0,3$). Кількісні величини обробляли статистично. Достовірність різниці між порівнювальними величинами визначали за допомогою критерію Стьюдента [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Морфометричні виміри порожньої кишки (табл. 1) показали, що при отруєнні організму блідою поганкою в досліджуваному органі збільшувалася висота покривних епітеліоцитів в 1,4 раза. Збільшення розмірів вказаних структур деякою мірою можна пояснити набряком, а також гіперфункцією даних клітин, яка виникає у відповідь на пошкодження цих досліджуваних елементів [6]. Діаметри ядер епітеліоцитів у даних умовах патології зростали на 15,9 %. Отримані та проаналізовані морфометричні показники вказують на диспропорційне та нерівномірне збільшення

ядра і цитоплазми епітеліоцитів, що підтверджувалося істотним порушенням ядерно-цитоплазматичних відношень у цих клітинах. Названий показник зменшувався від $(0,083\pm 0,006)$ до $(0,057\pm 0,008)$ мкм. Різниця між досліджуваними величинами виявилася суттєвою ($p<0,05$). Більшість авторів [4, 6, 10, 11] вказує на те, що даний параметр є об'єктивною та високоінформативною ознакою порушень структурного гомеостазу на клітинному рівні.

Відносний об'єм залозистих структур мав тенденцію до збільшення і в досліджуваних експериментальних умовах зростав на 16,8 %.

Під час аналізу кількісних показників артерій встановлено, що при отруєнні щурів блідою поганкою збільшеним виявився зовнішній діаметр дрібних артерій, який зростав на 18,6 %.

Внутрішній діаметр досліджуваних судин у цих патологічних умовах зменшувався майже в 1,3 раза. У даних експериментальних умовах суттєво збільшувався індекс Вогенворта. Цей показник зростав від $(917,10\pm 11,40)$ до $(2132,40\pm 30,90)$ %. Слід вказати, що різниця між даними величинами була суттєвою ($p<0,001$) й остання виявилася збільшеною у 2,3 раза. Встановлено також, що при отруєнні тварин блідою поганкою в 1,9 раза зростала товщина медії. Динаміка вищенаведених морфометричних показників свідчила про те, що в змодельованих патологічних умовах істотно погіршувалося кровопостачання стінки порожньої кишки.

Світлооптично в змодельованих умовах патології в стінці порожньої кишки мали місце виражені альтеративні й інфільтративні процеси, а також судинні розлади. Останні характеризувалися розширенням і повнокров'ям судин, нерівномірністю просвіту судин мікроциркуляторного русла, стазами, тромбозами та дрібновогнищевими крововиливами.

При отруєнні тварин токсинами блідої поганки відбувалося також зростання інтенсив-

Таблиця 1 – Морфометричні показники порожньої кишки білих щурів при отруєнні блідою поганкою ($M\pm m$)

№ за/п	Показник	Групи тварин	
		1-а	2-а
1	Висота покривних епітеліоцитів, мкм	13,50±0,15	18,90±0,24***
2	Діаметр ядер епітеліоцитів, мкм	3,89±0,06	4,51±0,09**
3	Ядерно-цитоплазматичні відношення	0,083±0,006	0,057±0,008*
4	Відносний об'єм уражених епітеліоцитів, %	1,95±0,03	42,80±3,30***
5	Відносний об'єм залозистих структур, %	28,60±1,80	33,40±1,50*
6	Зовнішній діаметр артерій, мкм	37,33±0,30	44,30±0,81**
7	Внутрішній діаметр артерій, мкм	12,30±0,14	9,60±0,27***
8	Індекс Вогенворта, %	917,10±11,40	2132,40±30,90***
9	Товщина медії, мкм	7,10±0,07	13,80±0,33***

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – величини, що статистично достовірно відрізняються від контрольних (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

Таблиця 2 – Процеси пероксидації, активність супероксиддисмутази й каталази в стінці порожньої кишки білих щурів при отруєнні блідою поганкою ($M \pm m$)

№ за/п	Показник	Група тварин	
		1-а	2-а
1	Малоновий діальдегід, нмоль/г білка	0,135±0,012	0,340±0,027***
2	Супероксиддисмутаза, % інгібування	57,6±2,1	21,3±1,5***
3	Каталаза, ммоль/г·хв	2,11±0,21	0,93±0,09**

ності ліпопероксидних процесів у стінці досліджуваного органа (табл. 2). Так, концентрація малонового діальдегіду підвищилася в 2,5 раза. Відмічалось також зниження показників антиоксидного захисту. Показник СОД у даних умовах патології зменшувався в 2,7 раза, а активність каталази – у 2,3 раза.

Шляхом кореляційного аналізу виявлено сильний позитивний зв'язок між відносним об'ємом уражених епітеліоцитів і рівнем МДА ($r=0,91 \pm 0,03$), а також аналогічний від'ємний зв'язок між ядерно-цитоплазматичними відношеннями та концентрацією МДА ($r=-0,790 \pm 0,012$). Між індексом Вогенворта та рівнем МДА досліджуваній параметр був значним і становив $(0,68 \pm 0,04)$. Зв'язок між іншими морфометричними параметрами та концентрацією МДА виявився помірним і навіть слабким ($r < 0,3$). Таким чином, проведений кореляційний аналіз свідчить про те, що стан перекисного окиснення ліпідів залежить від ступеня вираження деструктивних процесів у стінці порожньої кишки. Чим інтенсивніше виражені останні, тим більша концентрація МДА в стінці досліджуваного органа.

Значний кореляційний зв'язок виявлено між ядерно-цитоплазматичними відношеннями та СОД. Коефіцієнт кореляції при цьому дорівнював $(0,56 \pm 0,03)$ і підтверджував сказане. Майже аналогічний зв'язок встановлено між вищеназаним морфометричним показником й активністю каталази ($r=0,51 \pm 0,04$). У цих патологічних умовах між відносним об'ємом уражених епітеліоцитів, СОД й активністю каталази існували від'ємні сильні зв'язки ($r=-0,75-0,82$). Майже аналогічне явище спостерігалось при визначенні кореляційних зв'язків між індексом Вогенворта, який характеризує ступінь звуження артерій, та активністю СОД і каталази. Описане вказує на те, що із зниженням ступеня антиоксидного за-

хисту відмічаються погіршення кровопостачання і зростання розповсюдженості та глибини деструктивних процесів у стінці порожньої кишки.

Кількісні величини, отримані в результаті проведеного дослідження, свідчать про те, що деструктивні процеси, які виникають у стінці порожньої кишки при отруєнні організму блідою поганкою, суттєво впливають на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидної системи досліджуваного органа. При цьому активність процесів ліпопероксидації суттєво посилюється, а стан антиоксидної системи істотно погіршується. Спостерігається кореляція між ступенем змін вищевказаних процесів і вираженням патоморфологічних уражень досліджуваного органа.

Встановлені сильні кореляційні зв'язки між показниками перекисного окиснення ліпідів, параметрами антиоксидантної системи та морфометричними величинами, які відображають ступінь ураження порожньої кишки, свідчать про те, що останні є високодіагностичними та високоінформативними критеріями пошкодження даного органа при отруєнні організму блідою поганкою.

ВИСНОВОК. Отруєння організму блідою поганкою супроводжується вираженим ураженням стінки порожньої кишки, посиленням у ній процесів ліпопероксидації й істотним зниженням антиоксидного захисту. Існуючі сильні та значні кореляційні зв'язки між ступенями змін вищевказаних процесів і морфометричними параметрами, що відображають розповсюдженість та глибину структурної перебудови порожньої кишки, вказують на те, що вони є високоінформативними й високодіагностичними критеріями уражень досліджуваного органа при дії на організм токсинів блідої поганки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 318 с.
2. Андреева Л.И., Кожемякин М.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекиси липи-

дов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 41-43.

3. Бойчук Б.Р. Отруєння грибами. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1977. – 200 с.

4. Гнатюк М.С. Морфометрическое исследование кардиомиоцитов при гиперфункции сердца // Цитол. – 1991. – **33**, № 7. – С. 51-60.

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

6. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. – М.: Медицина, 1997. – 448 с.

7. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопр. мед. хим. – 1999. – **45**, № 3. – С. 263-272.

8. Сорочинников А.Г., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1987. – 448 с.

9. Шорманов С.В. Морфологические изменения коронарных артерий при экспериментальной коарктации аорты и после ее устранения // Арх. анатом., гистол. и эмбриол. – 1982. – **82**, № 1. – С. 98-107.

10. Elmon C.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – **83**, № 4. – P. 70-77.

11. Gshuind R., Umbricht C., Torcarst J. Evolution of shape descriptors for the morphometric analysis of cell nuclei // Pathol. Res. Pract. – 1986. – **181**, № 2. – P. 213-222.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАЛЛЕЛИ МЕЖДУ СОСТОЯНИЕМ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКСИДНОЙ ЗАЩИТОЙ И ОСОБЕННОСТЯМИ ПОРАЖЕНИЙ ТОЩЕЙ КИШКИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ОРГАНИЗМА БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ

М.С. Гнатюк, Л.Т. Выклюк

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Комплексом биохимических, морфологических и морфометрических методов изучены особенности структурно-функциональных изменений тощей кишки белых крыс при отравлении бледной поганкой. Было выяснено, что действие на организм указанного яда сопровождается выраженной структурной перестройкой исследуемого органа, а также усилением процессов липопероксидации и ухудшением антиоксидантной защиты. Установлены сильные и значительные корреляционные связи между степенью изменений вышеуказанных процессов и выраженностью патоморфологических поражений стенки тощей кишки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бледная поганка, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, тощая кишка.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PARALLELS BETWEEN CONDITION OF LIPID PEROXIDATION, ANTIOXYDANT SYSTEM AND PECULIARITIES OF JEJUNUM INJURIES AT THE POISONING OF THE ORGANISM WITH AMANITA PHALLOIDES

M.S. Hnatjuk, L.T. Vykylyuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

By means of the complex of biochemical, morphological and morphometrical methods investigated peculiarities of structural and functional changes of the jejunum in white rats at poisoning with Amanita phalloides. It has been established that the action on organism of specified Amanita phalloides is accompanied by the expressed structural reorganization of the investigated organ and intensification of lipid peroxidation and worsening of antioxidant system. There have been defined powerful and important correlative connections between the level of changes of above-mentioned processes and expression of pathomorphological alterations of jejunum wall.

KEY WORDS: Amanita phalloides, lipid peroxidation, antioxidant system, jejunum.

Отримано 16.07.2002 р.

Адреса для листування: Л.Т. Виклюк, кафедра фармакології з біологією та медичною генетикою, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ЗМІНИ ПОЛІПЕПТИДНОГО СКЛАДУ ГЛІАЛЬНИХ ПРОМІЖНИХ ФІЛАМЕНТІВ І ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ ЩУРІВ, ІНДУКОВАНІ ХЛОРИДОМ АЛЮМІНІЮ

В.С. Недзвецький, П.О. Неруш¹

ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ¹

Досліджено вплив хлориду алюмінію на поліпептидний склад проміжних філаментів гліальних клітин і поведінкові реакції щурів у тесті "відкрите поле". Визначено, що довготривала дія алюмінію індукує збільшення кількості деградованих поліпептидів гліальних проміжних філаментів і одночасно призводить до зростання загальної кількості білка гліальних проміжних філаментів у мозочку і корі великих півкуль головного мозку тварин. Виявлено також пригнічення поведінкових реакцій в групі щурів, які отримували в питній воді хлорид алюмінію (0,2 %) протягом 21 дня. Одержані результати вказують на можливість реконструкції цитоскелета гліальних клітин і залучення ГФКБ-позитивних клітин у процеси пластичності після порушень, які індукуються іонами Al^{3+} .

КЛЮЧОВІ СЛОВА: проміжні філаменти, гліальний фібрилярний кислий білок, хлорид алюмінію, тест "відкрите поле".

ВСТУП. Центральна проблема нейронаук полягає у розкритті молекулярних взаємодій і змін, що відіграють важливу роль в активно-залежній реконструкції зрілої нервової системи, а також відновленні нервової тканини після пошкоджень. Деякі нейродегенеративні захворювання супроводжуються порушеннями в структурі проміжних філаментів нервових клітин, що селективно дегенерують [9]. Дія багатьох пошкоджувальних факторів індукує активацію гліальних клітин, перш за все – астроцитів. Цитоскелет астроцитів складається значною мірою з гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ, 49 кДа) [1]. ГФКБ визначає функціональну гетерогенність і специфіку цитоскелета гліальних клітин в нормі, а також відіграє важливу роль в розвитку нейродегенеративних процесів. Наприклад, порушення структури проміжних філаментів [3] є однією з морфологічних і біохімічних ознак хвороби Альцгеймера, синдрому Паркінсона, аміотрофічного латерального склерозу тощо [5, 8]. Роль таких цитоскелетних формувань в нейродегенеративних процесах не відома, але деякі питання можуть бути дослідженими в адекватних тваринних моделях.

© В.С. Недзвецький – к.б.н., П.О. Неруш – д.м.н., проф., 2002.

Відомі хімічні й фізичні чинники, які здатні викликати порушення в цитоскелеті клітин нервової системи. Специфічний вплив на елементи цитоскелета може бути зумовлений також деякими іонами металів, що мають певні нейротоксичні властивості. Зокрема, показано, що іони Al^{3+} спричиняють формування нейрофібрилярних сплетень [27]. Вплив негативних чинників на цитоскелетні елементи потребує подальшого дослідження.

Метою нашої роботи було визначити зміни вмісту білка гліальних проміжних філаментів у різних відділах головного мозку щурів, а також поліпептидний склад цих білків при дії солей алюмінію ($AlCl_3$).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 18-24 тижневих щурах лінії Вістар масою 180-220 г. Контрольна і експериментальна групи складалися з 6 тварин кожна. Щури експериментальної групи отримували в питній воді хлорид алюмінію (0,2 %) протягом 21 дня. Після декапітації головний мозок вилучали, охолоджували і розділяли на відділи. Зразки по 0,2 г тканини (головний мозок загалом, кора великих півкуль, мозочок, гіпокамп) гомогенізували в 4,5 мл 0,025 М тріс-буфера (pH-8,0), до якого додавали 2 мМ ЕДТА, 1 мМ

2-меркаптоетанолу, 0,1 мМ фенілметилсульфонілфториду і 10 мкг/мл соєвого інгібітора трипсину. Гомогенат центрифугували при 30 000 g протягом 60 хв. Супернатант S_1 містив розчинну форму білка гліальних філаментів. Осад ресуспендували в 1,0 мл 4,0 М розчину сечовини на тій же буферній системі. Супернатант S_2 , який отримували після другого центрифугування, містив у собі нерозчинну (філаментну) форму ГФКБ. Кількість розчинної і філаментної форм ГФКБ визначали за допомогою ракетно-лінійного імуоелектрофорезу, як описано раніше [9]. Солюбілізовані білки проміжних філаментів мають високу тенденцію до спонтанної агрегації. У зв'язку з цим, вміст білка гліальних проміжних філаментів виражали в умовних одиницях (пропорційних площам відповідних імуопреципітатів) з розрахунку на 1 мг білка розчинної або філаментної фракції. Вміст загального білка в екстрактах визначали за допомогою методу Лоурі в модифікації Міллера [16]. Для визначення поліпептидного складу проміжних філаментів глії використовували метод імуоблотингу із застосуванням моноспецифічної антисироватки [14].

Поведінкові реакції тварин оцінювали у тесті "відкритого поля" [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дані кількісного визначення ГФКБ після впливу хлориду алюмінію протягом 21 доби представлено на рисунку 1. Найбільш суттєво змінювався вміст філаментної форми ГФКБ. Загалом зміни філаментної і розчинної форм ГФКБ спрямовані у бік підвищення рівня. Достовірні зміни кількості філаментної форми ГФКБ виявлено в групі тварин, які отримували 0,2 % розчин хлориду алюмінію, в усіх досліджених відділах.

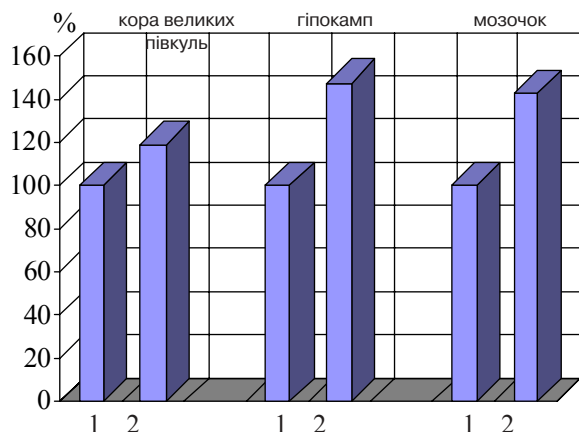


Рис. 1. Відносний вміст філаментної форми ГФКБ у мозку контрольної групи тварин (1) і групи щурів, які отримували в питній воді 0,2 % розчин хлориду алюмінію (2).

Відносний вміст ГФКБ в окремих відділах мозку залежить від присутності в них ГФКБ-позитивних клітин. Найвищий рівень ГФКБ визначається у середньому мозку, а найнижчий – у корі великих півкуль. Треба також відзначити, що в мозку щурів філаментний ГФКБ становить значно більшу частину, порівняно з розчинною формою. Так, у корі великих півкуль розчинна форма складає в середньому 8 % від філаментної, в гіпокампі і мозочку – 15 %, в середньому мозку – понад 20 % [14].

Методом імуоблотингу виявлено зміни поліпептидного складу ГФКБ у всіх досліджених відділах мозку. В корі великих півкуль значно збільшувався вміст поліпептиду – 49 кДа (рис. 2). У гіпокампі при впливі Al^{3+} виявляються додатково поліпептиди з Mr 40 та 45-46 кДа (рис. 3). Найбільш істотні зміни поліпептидного складу ГФКБ виявлено у фракціях мозочка (рис. 2, 3). В мозочку зростає вміст деградованих поліпептидів в діапазоні Mr 47-42 кДа розчинної фракції.

Для всіх досліджених відділів характерна поява окремих деградованих поліпептидів, які не виявлялися в мозку контрольної групи тварин. Це можна пояснити тим, що Al^{3+} впливає на фізико-хімічні властивості проміжних філаментів, як то відомо для проміжних філаментів нейронів [14]. Наприклад, 200 кДа субодиниця нейрофіламентів може стехіометрично зв'язувати Al^{3+} [20].

Отримані дані дозволяють передбачити, що іони алюмінію індують реорганізацію проміжних філаментів астроглії. Раніше нами була показана можливість одного з шляхів деградації ГФКБ-поліпептидів системою Ca^{2+} -залежного протеолізу – кальпаїнами [15]. Відносно швидкі цитоскелетні перебудови здійснюються за участю протеолітичних ферментів. Ймовірно, розчинні поліпептиди гліальних філаментів рівною мірою з філаментними схильні до протеолізу.

Збільшення вмісту фібрилізованої форми ГФКБ можна пояснити не тільки зростанням кількості реактивних астроцитів. Можливо, гліальні проміжні філаменти зазнають змін фізико-хімічних властивостей, які подібні на зміни нейрофіламентів в клітинах, що зазнавали тривалого впливу Al^{3+} . Виділені з клітин такі нейрофіламенти більш стійкі до дефосфорилування і деградації ендогенними Ca^{2+} -залежними протеазами, більш схильні до формування нерозчинних агрегатів [22]. Ймовірно, Al^{3+} гальмує протеолітичну деградацію також і гліальних філаментів. Достовірних змін кількості Al^{3+} в мозку експериментальних і кон-



Рис. 2. Імуноблотинг сечовинних фракцій з мозку групи контрольних тварин (1) і групи щурів, які отримували 0,2 % розчин $AlCl_3$ протягом 21 доби (2).



Рис. 3. Імуноблотинг розчинних фракцій з мозку групи контрольних тварин (1) і групи щурів, які отримували 0,2 % розчин $AlCl_3$ протягом 21 доби (2).

трольних тварин методом атомно-абсорбційного аналізу не виявлено.

Дію Al^{3+} на гліальні клітини вивчено недостатньо повно, щоб однозначно пояснити зміни, які було виявлено. Алюміній є одним з найбільш поширених металів земної кори. Сполуки алюмінію використовують як ад'юванти [19]. У імунотерапії алергій застосовують Al^{3+} -адсорбовані алергени, які вважаються безпечними і ефективними [26]. На сьогодні нагромаджена велика кількість експериментальних даних, які підтверджують також і несприятливий вплив Al^{3+} на різні організми. Відомо, що Al^{3+} може бути токсичним для організму [10]. Іони Al^{3+} в мікромолярних концентраціях спричиняють порушення ембріогенезу в морських їжаків [18], а також метаболізму мікроелементів у щурів під час вагітності [6]. Що стосується нервової системи, то Al^{3+} викликає морфофункціональні порушення компонентів цитоскелета нейронів, які супроводжуються появою безладно скручених філаментів [23].

Дослідження стану орієнтовно-дослідницької діяльності в тесті "відкритого поля" показало зниження всіх показників поведінкових реакцій (рис. 4), яке може бути наслідком нейротоксичного впливу іонів Al^{3+} у експериментальній групі тварин. Подібні явища спостерігаються в пацієнтів з нейродегенеративними захворюваннями [24].

Поширена відповідь нервової тканини на несприятливі чинники – гліоз, який супроводжується проліферацією і міграцією астроцитів [12]. У гліальних клітинах Al^{3+} акумулюється значно більше, ніж у нейронах. Разом із тим, глія стійкіша до оксидативного стресу [17]. Є дані про те, що саме підвищення концентрації Al^{3+} викликає гліоз у фронтальній корі, а деякі хелатори, які знижують активну концентрацію іонів Al^{3+} , гальмують розвиток гліозу [28]. Автори пропонують супровідні гліозу зміни ГФКБ використовувати як індекс нейротоксичності при впливі солей металів, наприклад Pb^{3+} [7]. Передбачають, що токсичність Al^{3+} для клітин може бути пов'язана з порушенням транспорту іонів, зокрема іонів Mg^{2+} [15]. На підставі того, що гліальні клітини регулюють

іонний баланс в просторі, навколишньому для нейронів, порушення транспорту іонів може бути однією з причин нейротоксичності Al^{3+} . Молекулярний механізм патологічного впливу іонів Al^{3+} на нервову систему далеко не повністю зрозумілий. Виявлені кількісні зміни білка гліальних проміжних філаментів, а також зміни поліпептидного складу, дозволяють припустити можливість того, що Al^{3+} , одночасно з фібрилогенезом, індукує прискорену деградацію ГФКБ і реорганізацію гліального цитоскелета. Крім безпосереднього впливу на активність ферментів, можлива дія на рівень вільного Ca^{2+} в нервовій тканині та, як наслідок, на кіназну активність. У свою чергу, фосфорилування на сьогодні вважають одним з найбільш реальних метаболічних шляхів, який регулює стан цитоскелета.

Інтравентрикулярна ін'єкція лактату алюмінію викликає селективну втрату астроцитів у корі головного мозку щурів, але не супроводжується формуванням нейрофіламентних агрегатів [25]. Погіршення астроцитарної активності підтверджує нейротоксичну дію іонів Al^{3+} на ці клітини. Активність гліальних клітин має велике значення для репарації нейрональних пошкоджень. Існують дані про кореляцію між гліальною супресією, яка викликається іонами Al^{3+} , і здатністю нервової тканини до відновлення [9]. Гліальні клітини

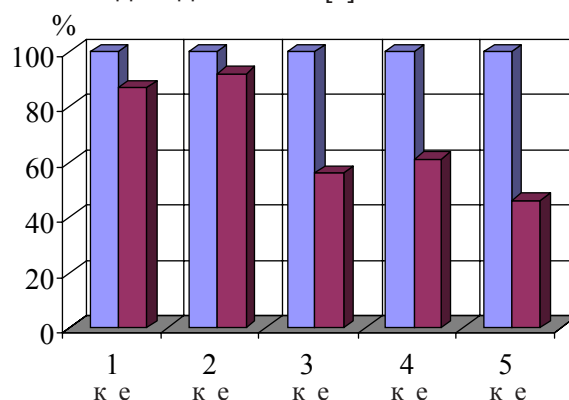


Рис. 4. Поведінкові реакції щурів експериментальної групи відносно контрольної в тесті "відкритого поля" (%): к – контрольна група, е – група щурів, які отримували в питній воді 0,2 % розчин хлориду алюмінію; 1 – грумінг, 2 – болуси, 3 – горизонтальні квадрати, 4 – вертикальні стойки, 5 – відвідування схованок.

чутливі до змін нейрональної активності при пошкодженнях, і їх здатність до структурної пластичності є важливою для відновлення нервової тканини [13].

ВИСНОВОК. Перебудова проміжних філаментів астроглії може бути тільки одним з багатьох кроків у розвитку патогенезу, що

викликається несприятливими чинниками. Виявлені цитоскелетні зміни є морфологічною основою для реорганізації нейрональної мережі контактів. Враховуючи те, що фібрилогенез відображає процеси диференціації [21], отримані дані свідчать про залучення ГФКБ-позитивних клітин до механізмів пластичності після порушень, які індукуються іонами Al^{3+} .

ЛІТЕРАТУРА

1. Березин В.А., Шевченко Г.М., Бунятян Г.Г. и др. Специфические белки промежуточных филаментов в нормальной нервной ткани и опухолях мозга // *Нейрохим.* – 1987. – **6**, № 2. – С. 77-82.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – Москва: Высшая школа, 1991. – 289 с.
3. Недзвецкий В.С., Бусыгина С.Г., Березин В.А., и др. ЦНС-синдром. Характеристика промежуточных филаментов головного мозга крысы // *Радиобиол.* – 1990. – **30**, вып. 2. – С. 243-246.
4. Недзвецкий В.С., Неруш П.О. Білок гліальних проміжних філаментів в різних відділах головного мозку щурів при експериментальному неврозі // *Нейрофізіологія.* – 1999. – № 2. – С. 115-119.
5. Недзвецкий В.С., Ушакова Г.А., Бусыгина С.Г. и др. Влияние малых доз ионизирующей радиации на промежуточные филаменты и Ca^{2+} -активируемую систему протеолиза головного мозга крысы // *Радиобиол.* – 1991. – **31**, вып. 3. – С. 333-339.
6. Bales M., Albina M., Sanchez D. et al. Effects of oral aluminum on trace elements metabolism during pregnancy // *Biol. Trace Elem.* – 2001. – **79**, № 1. – P. 67-81.
7. Gong Z., Little A.R., el-Fawal H. et al. Trimethyl lead neurotoxicity in the rat: changes in glial acidic protein // *Arh. Higijena Rada Toksikol.* – 1995. – **46**, № 4. – P. 381-390.
8. Holmberg B., Rosengren L., Karlsson J.E. et al. Increased cerebrospinal fluid levels of neurofilament protein in progressive supranuclear palsy and multiple-system atrophy compared with Parkinson's disease // *Movement Disord.* – 1996. – **13**, № 1. – P. 70-77.
9. He B.P., Strong M.J. A morphological analysis of motor neuron degeneration and microglial reaction in acute and chronic in vivo aluminium chloride neurotoxicity // *J. Chem. Neuroanat.* – 2000. – **17**, № 4. – P. 207-215.
10. Huff W.F., Moore P.A., Balog J.M. et al. Evaluation of the toxicity of alum (alum sulfate) in young broiler chickens // *Poultry Sci.* – 1996. – **75**, № 11. – P. 1359-1365.
11. Inoue B., Yagishi S., Hoh Y. et al. Coexistence of paired helical filaments and polyglucosan bodies in the same neuron in an autopsy case of Alzheimer's disease // *Acta Neuropathol.* – 1996. – **90**, № 5. – P. 511-514.
12. Jeglinski W., Koczuk D., Zaremba M. et al. Bilateral gliosis in unilaterally lesioned septohippocampal system: changes in GFAP immunoreactivity and content // *J. Neurosci. Res.* – **41**, № 3. – P. 394-402.
13. Kiss J.Z. A role of adhesion molecules in neuroglial plasticity // *Molec. Cell Endocrinol.* – 1998. – **140**, – P. 89-94.
14. Leterier J.F., Langui D., Probst A. et al. A molecular mechanism for the induction of neurofilament bundling by aluminium ions // *J. Neurochem.* – 1992. – **58**. – P. 755-760.
15. McDiarmid C.W., Gardner R.C. Al^{3+} Toxicity in yeast. A role for Mg^{2+} ? // *Plant Physiol.* – 1996. – **112**, № 3. – P. 1101-1109.
16. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // *Anal. Chem.* – 1959. – **31**, № 5. – P. 964-966.
17. Oshiro S., Kawahara M., Kuroda Y. et al. Glial cells contribute more to iron and aluminum accumulation but are more resistant to oxidative stress than neuronal cells // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – **1502**, № 3. – P. 405-414.
18. Pagano G., His E., Beiras R. et al. Cytogenetic, developmental and biochemical effects of aluminium, iron and their mixture in sea urchins and mussels // *Environm. Contamin. Toxicol.* – 1996. – **31**, № 4. – P. 466-474.
19. Petersen E., Nielsen H.V., Christiansen L. et al. Immunization with E. coli produced recombinant T. gondii SHG1 with alum as adjuvant protect mice against lethal infection with *Toxoplasma gondii* // *Vaccine.* – 1998. – **16**, № 13. – P. 1283-1289.
20. Pierson K.B., Evenson M.A. 200 Kd neurofilament protein binds Al, Cu and Zn // *Biochem. Biophys. Commun.* – 1988. – **152**, № 2. – P. 598-604.
21. Rio C., Dikkes P., Liberman M.C., Corfas G. Glial fibrillary acidic protein expression and promoter activity in the inner ear of developing and adult mice // *J. Comp. Neurol.* – 2002. – **7**, № 2. – P. 156-62.
22. Shea T.B., Beermann M.L., Nixon R.A. Aluminium treatment of intact neuroblastoma cells alters neurofilament subunit phosphorylation, solubility and proteolysis // *Molec. Clin. Neuropathol.* – 1995. – **26**, № 1. – P. 1-14.
23. Shea T., Clarke J., Whelock T. et al. Aluminium salts induce the accumulation of neurofilaments in perikaryal of NB 2a/dl neuroblastoma // *Brain Res.* – 1998. – **14**, № 5. – P. 3-64.
24. Shin R.W. Interaction of aluminum with paired helical filament tau is involved in neurofibrillary patho-

- logy of Alzheimer's disease // Gerontol. – 1997. – **43**, Suppl. 1. – P. 16-23.
25. Shirley X., Ellen Y., Yang Y. et al. Decrease of glial fibrillary acidic protein in rat frontal cortex following aluminium treatment. // J. Neurochem. – 1999. – **73**, № 4. – P. 1609-1614.
26. Tari M.G., Mancino M., Ghezi M. et al. Immunotherapy with an alum adsorbed parietoria-pollen allergoid: a 2-year, double-blind, placebo-controlled study // J. Allergy Clin. Immunol. – 1997. – **52**, № 1. – P. 65-74.
27. Yamazaki M., Nakano I., Imazu O. et al. Paired helical filaments and straight tubules in astrocytes an electron microscopic study in dementia of the Alzheimer type // Acta Neuropathol. – 1995. – **90**, № 1. – P. 31-36.
28. Yokel R.A., O'Callaghan J.P. An aluminium-induced increase in GFAP is attenuated by some chelators // Neurotoxicol. Teratol. – 1998. – **20**, № 1. – P. 55-60.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОЛИПЕПТИДНОГО СОСТАВА ГЛИАЛЬНЫХ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ХЛОРИДОМ АЛЮМИНИЯ

В.С. Недзвецкий, П.А. Неруш¹
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ¹

Резюме

Исследовано влияние хлорида алюминия на полипептидный состав промежуточных филаментов глиальных клеток и поведенческие реакции крыс в тесте "открытое поле". Определено, что длительное действие ионов алюминия индуцирует увеличение количества деградированных полипептидов глиальных промежуточных филаментов и одновременно возрастание общего количества белка глиальных промежуточных филаментов в мозжечке и коре больших полушарий головного мозга животных. Выявлено также угнетение поведенческих реакций в группе крыс, которые получали в питьевой воде хлорид алюминия (0,2 %) на протяжении 21 дня. Полученные результаты указывают на возможность реконструкции цитоскелета глиальных клеток и вовлечение ГФКБ-позитивных клеток в процессы пластичности после нарушений, индуцированных ионами Al³⁺.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: промежуточные филаменты, глиальный фибриллярный кислый белок, хлорид алюминия, тест "открытое поле".

ALUMINIUM CHLORIDE INDUCES THE CHANGES OF BOTH GLIAL INTERMEDIATE FILAMENTS POLYPEPTIDES AND RATS BEHAVIORAL REACTIONS

V.S. Nedzvetsky, P.A. Nerush¹
DNEPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY
DNEPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY¹

Summary

The effect of chloride aluminium on state of glial intermediate filament and behavioral reactions of rats in the test "open field" was investigated. The results of experiments show, that there are both a rising of degraded GFAP polypeptides amount and an increasing of common glial intermediate filaments quantity under longtime treatment with aluminium chloride. In addition to these result, rats to be treated by 0,2 % aluminium chloride in drinking water have more longtime performance of "open field" test. The observations presented here suggest that Al³⁺ induces a cytoskeletal reconstruction of glial cell. GFAP-positive glial cells should be considered a key element, like neurons, of a dynamic environment, thus forming functional unit involved in plasticity.

KEY WORDS: intermediate filaments, glial fibrillary acidic protein (GFAP), aluminium chloride, "open field" test.

Отримано 09.08.2002 р.

Адреса для листування: П.О. Неруш, кафедра нормальної анатомії, Дніпропетровська державна медична академія, вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДВОХ ПІКІВ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ ESCHERICHIA COLI

Г.М. Семчишин, В.І. Луцак

ПРИКАРПАТСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. СТЕФАНИКА, ІВАНО-ФРАНКІВСЬК

Раніше нами виявлені два піки активності каталази при значеннях рН 3,0-3,5 та 6,5-7,0 в частково зруйнованих клітинах E. coli K12 KS400. У даному дослідженні встановлено, що ці максимуми відрізняються термостабільністю. Так, активність каталази, яку визначали при нейтральних значеннях рН, була зменшена на 30 % в нативних клітинах та не змінилась у препаратах заморожених-розморожених бактерій внаслідок 3-годинного нагрівання при температурі 47 °С. Активність ферменту, яку визначали в кислій зоні рН, зменшилась до 10 % в інтактних клітинах за 3 год термообробки, а в препаратах клітин після замороження зникла повністю за 80 хв. Два рН-оптимуми каталази відрізнялись також за чутливістю до інгібітора азиду натрію. Обговорюються можливі причини наявності двох максимумів активності каталази у кишковій паличці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **Escherichia coli, каталаза, рН-оптимум, нагрівання, інгібування.**

ВСТУП. Супероксид-аніон, пероксид водню і гідроксильний радикал утворюються внаслідок послідовного відновлення молекулярного кисню. Їх генерація в клітині є результатом нормального аеробного метаболізму [1, 5] і може зростати внаслідок дії різних факторів зовнішнього середовища [1]. Пероксид водню утворюється внаслідок реакції дисмутації супероксиду, яка відбувається спонтанно чи каталізується супероксиддисмутазою – ферментом, що входить до складу антиоксидної системи клітини. Іншим ферментом, який формує цю систему, є каталаза (пероксид водню: пероксид водню оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6). Вона розкладає пероксид водню до води і молекулярного кисню згідно з рівнянням: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Кишкова паличка продукує дві форми каталази: біфункціональну каталазу-пероксидазу НРІ та монофункціональну гідропероксидазу НРІІ [7]. Обидві ізоформи відрізняються за молекулярними характеристиками, фізико-хімічними властивостями, регуляцією експресії генів, які їх кодують, та локалізацією в клітині [6].

Метою даного дослідження було вивчити деякі біохімічні властивості виявлених раніше [2, 3] двох піків активності каталази в E. coli K12 KS400.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. *Штами бактерій і реагенти.* У роботі використовували бактерії

© Г.М. Семчишин, В.І. Луцак – к.б.н., 2002.

Escherichia coli K12 штаму KS400 (met B), отриманого з Інституту епідеміології і мікробіології ім. Гамалеї РАН (Росія). Усі реактиви мали марку, не нижчу "ЧДА", виробництва фірми "Реахім" (СРСР). Живильне середовище для культивування бактерій – виробництва НДІ живильних середовищ (м. Махачкала, Росія).

Культивування і підготовка бактерій. Бактерії вирощували методом глибинного культивування протягом 15-17 год (стаціонарна фаза) при температурі 37 °С. Живильне середовище містило 10,05 г/л панкреатичного гідролізату кільки і 4,95 г/л хлориду натрію (рН-7,0). Середовище стерилізували шляхом автоклавування за допомогою парового стерилізатора ВК-75 (СРСР) при температурі 121 °С протягом 20 хв. Клітини осаджували методом центрифугування при 3 000 г протягом 10 хв на центрифугі К-24D, двічі промивали 50 мМ калій-фосфатним буфером (рН-7,0), що містив 0,5 мМ ЕДТА. Далі бактерії ресуспендували в цьому ж буфері. Величина оптичної густини культури, розведеної в 100 разів (~108 клітин/мл), при довжині хвилі 600 нм становила приблизно 0,3 од. Для руйнування бактерії заморожували при -5 °С на 15-20 год і безпосередньо після розморожування обробляли ультразвуком протягом 8-10 хв при 22 кГц і температурі 2-4 °С. Ультразвукову обробку проводили на дезінтеграторі УЗДН-2Т. Після цього зруйновані клітини центрифугували при 4 000 г і температурі 4 °С протягом 10 хв. Препарати

зруйнованих бактерій зберігали на льоду і негайно використовували для досліджень.

Визначення активності каталази. Активність ферменту визначали на спектрофотометрі СФ-46 при температурі 25 °С. Для визначення активності каталази використовували інтактні бактерії (препарат 1), заморожені-розморожені клітини (препарат 2) і супернатант після центрифугування зруйнованих ультразвуком бактерій (препарат 3). Активність ферменту оцінювали за дисмутацією пероксиду водню при довжині хвилі 240 нм. При цьому використовували коефіцієнт молярної екстинкції для пероксиду водню 39,4 М⁻¹см⁻¹ [4]. Проба об'ємом 2 мл містила (вказано кінцеві концентрації): 10 мМ Н₂О₂, 0,5 мМ ЕДТА, 50 мМ калій-фосфатного буфера (рН=7,0) і 20 мкл відповідного препарату бактерій. Контрольна проба не містила Н₂О₂. Для дослідження рН-залежності активності ферменту використовували суміш, що містила 15 мМ цитратного, 15 мМ калій-фосфатного і 15 мМ тріс-НСІ буфера з 0,5 мМ ЕДТА. Дослідження термостабільності каталази проводили при температурі 47 °С [2] і рН 7,0, застосовуючи водяну баню.

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми "MYNOVA" [8].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вільна дифузія пероксиду водню через плазматичні мембрани [2, 5] дозволяє досліджувати активність каталази в умовах нативної клітини. Використовуючи цю обставину, ми провели ряд порівняльних досліджень властивостей каталази інтактних бактерій *Escherichia coli*, а також на різних етапах руйнування клітин.

Вивчення рН-залежності каталази в препаратах кишкової палички з різним ступенем дезинтеграції клітин дозволило виявити широкий рН-оптимум у нативних бактерій та два піки активності ферменту при значеннях рН 3,0-3,5 і 6,5-7,0 в частково зруйнованих [2]. Причому активність каталази з двома рН-оптимиумами відрізнялась чутливістю до оксидативного стресу, індукованого пероксидом водню [3]. Два піки активності ферменту відрізнялись також стабільністю в процесі руйнування бактерій. Так, у препаратах бактерій, зруйнованих ультразвуком, активність каталази, яку визначали в кислій зоні практично не спостерігалась. Активність же з нейтральним максимумом знижувалась до 80 % внаслідок такої обробки бактерій. Метою подальших досліджень було диференціювання двох піків активності за допомогою стандартних біохімічних методів. Тому для цих дослідів бактерії вирощували в середовищі з рН 5,5, оскільки в попередніх дослідях нами було встановлено, що саме за цих умов частка активності каталази з кислим рН-оптимиумом відносно активності каталази при нейтральних значеннях рН є найвищою.

Результати вивчення термостабільності активності каталази при рН 3,0 та 6,5 в препаратах нативних клітин та клітин після заморожування представлено на рисунках 1 та 2 відповідно. Поступове зниження активності ферменту внаслідок нагрівання бактерій при температурі 47 °С протягом 3-х годин спостерігалось в обох випадках. Проте активність каталази інтактних бактерій з нейтральним рН-оптимиумом знизилась приблизно до 70 %, а активність з кислим рН-оптимиумом – до 10 %

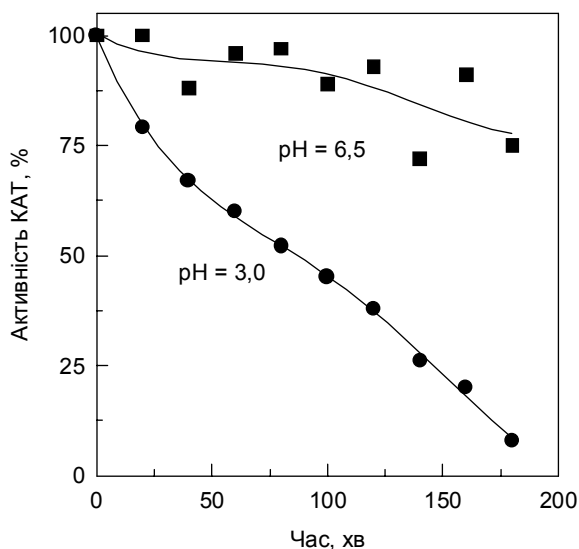


Рис. 1. Вплив нагрівання при температурі 47 °С на активність каталази, яку визначали при двох значеннях рН, в нативних клітинах.

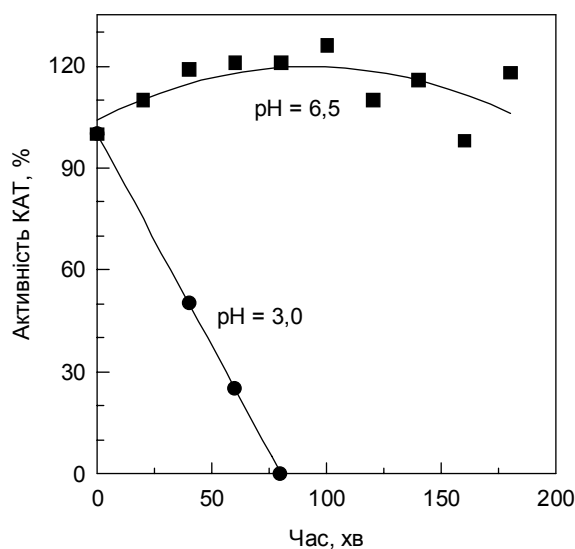


Рис. 2. Вплив нагрівання при температурі 47 °С на активність каталази, яку визначали при двох значеннях рН, в препаратах заморожених-розморожених клітин.

(рис. 1). У препаратах заморожених-розморожених клітин різниця в термостабільності ферменту при обох значеннях рН ще більш очевидна (рис. 2). Так, активність каталази з максимумом при рН 6,5 внаслідок нагрівання навіть трохи зростала, повертаючись до приблизно початкових величин на 3-й годині досліду. Разом із тим, активність ферменту з оптимумом при рН 3,0 була втрачена повністю за 80 хв нагрівання. Варто додати, що пік у кислій зоні зникав також внаслідок заморожування бактерій на 3 дні, причому активність каталази, яку визначали при рН 6,5, при цьому практично не змінювалась. Таким чином, можна зробити висновок про більшу стабільність активності каталази з нейтральним рН-оптимумом порівняно з активністю, яку визначали при рН 3,0.

Отримавши результати, що свідчать про різну термостабільність двох піків активності каталази, на наступному етапі досліджень ми спробували модифікувати рН-залежність активності каталази нагріванням. Для цього досліду використовували препарат заморожених-розморожених бактерій, оскільки, вивчаючи рН-залежність каталази на цьому етапі руйнування клітин, ми отримали найбільш диференційовані два піки активності. Рисунок 3 демонструє рН-залежність активності каталази в препараті 2 до нагрівання та після 3-годинного нагрівання. Результати свідчать про істотну зміну рН-залежності активності каталази в результаті термообробки препарату 2. Як бачимо, активність каталази з максимумом при рН 3,0 повністю зникає на відміну від активності, яку визначали при нейтральних значеннях рН.

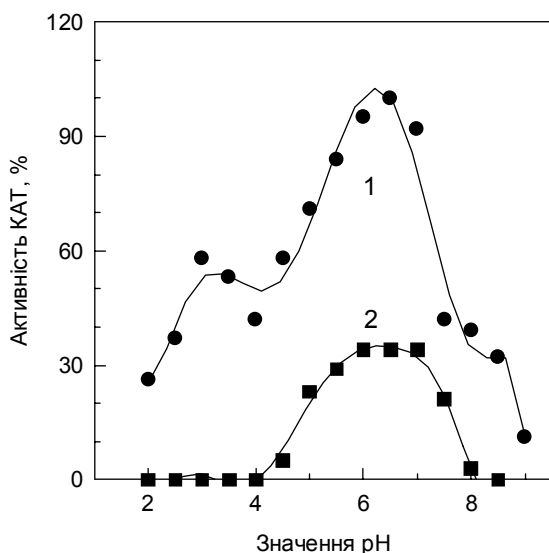


Рис. 3. Вплив нагрівання при температурі 47 °С протягом трьох годин на рН-залежність активності каталази в заморожених-розморожених клітинах *E. coli*. Крива 1 – контроль, крива 2 – активність у прогрітих препаратах.

Для подальшої диференціації двох виявлених піків активності каталази ми дослідили інгібування цих активностей азидом натрію (NaN_3). На рисунку 4 чітко продемонстровано, що 600 мкМ азиду інгібують фермент заморожених-розморожених клітин як при кислих, так і при нейтральних значеннях рН. Однак активність при рН 3,0 зовсім не виявлена, а при рН 6,5 була заінгібована на 85 %. Так, у контрольному досліді чітко бачимо два піки активності каталази досліджуваного препарату. В результаті дії інгібітора кислий максимум повністю відсутній, а активність ферменту, яку визначали в нейтральній зоні, становить близько 15 %.

ВИСНОВОК. Виявлені нами раніше два рН-оптимиуми активності каталази *E. coli* K12 KS400 [2, 3] характеризуються різною чутливістю до процесів дезінтеграції клітин і дії інгібітора азиду натрію, а також термостабільністю. Наявність двох максимумів активності каталази з різними властивостями може мати кілька пояснень. Наприклад, можливе існування двох форм ферменту, які продукуються кишковою паличкою і відрізняються біохімічними характеристиками [6]. Хоча, за даними літератури, гідропероксидази НРІ та НРІІ виявляють максимальну активність у нейтральній зоні [6.], тими ж авторами описані штами кишкової палички, в яких в результаті певних мутацій спостерігали зсув рН-оптимуму каталази в кислу зону рН [7]. Другим поясненням може бути наявність нестійкого активатора каталази, дія якого проявляється при значеннях рН 3,0-

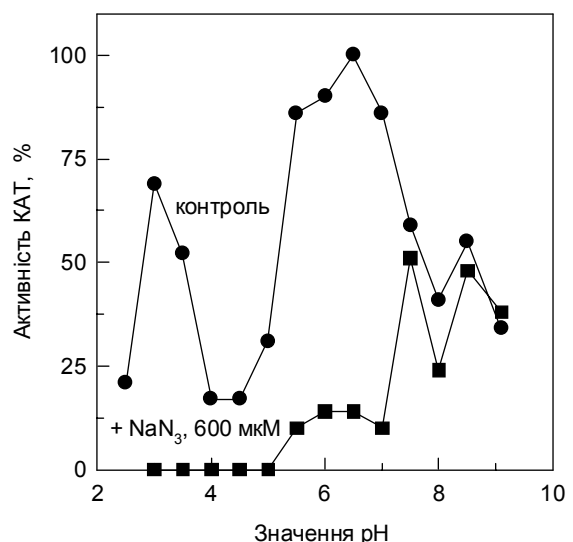


Рис. 4. Вплив азиду натрію на рН-залежність активності каталази в препаратах заморожених-розморожених клітин.

3,5 і активність якого втрачається при руйнуванні клітини. Третє пояснення може полягати в наявності мембранного компонента,

який також задіяний у регуляції рН-чутливості каталази через підтримання трансмембранного градієнта протонів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Луцка В.И. Окислительный стресс и механизмы защиты от него у бактерий // Биохимия. – 2001. – **66**, № 5. – С. 592-609.
2. Семчишин Г.М., Дильовий М.В., Клименко А.О., Луцка В.И. Вплив руйнування клітин *Escherichia coli* на каталітичні властивості каталази // Укр. біохім. журн. – 2001. – **72**, № 1. – С. 24-28.
3. Семчишин Г.М., Клименко А.О., Луцка В.И. Вплив окислювального стресу на рН-чутливість каталази *Escherichia coli* // Мед. хім. – 2000. – **2**, № 2. – С. 59-61.
4. Aebi H. Catalase in vitro // Meth. Enzymol. – 1984. – **105**. – P. 121-126.
5. Chance B., Sies H., Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs // Physiol. Rev. –

1979. – **59**, № 3. – P. 527-605.

6. Loewen P.C. Bacterial catalases. Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. – NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. – P. 273-308.

7. Loewen P.C., Triggs B.L., George C.S., Hrabarchuk B.E. Genetic mapping of *katG*, a locus that affects synthesis of the bifunctional catalase-peroxidase hydroperoxidase I in *Escherichia coli* // J. Bacteriol. – 1985. – **162**, № 2. – P. 61-67.

8. Triggs-Raine B., Doble B.W., Mulvey M.R. et al. Nucleotide sequence of *katG*, encoding catalase HPI of *Escherichia coli* // J. Bacteriol. – 1988. – **170**, № 9. – P. 4415-4419.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДВУХ ПИКОВ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ *ESCHERICHIA COLI*

Г.Н. Семчишин, В.И. Луцка

ПРИКАРПАТСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В. СТЕФАНИКА, ИВАНО-ФРАНКОВСК

Резюме

Ранее нами были обнаружены два пика активности каталазы при значениях рН 3,0-3,5 и 6,5-7,0 в частично разрушенных клетках *E. coli* K12 KS400. В данном исследовании установлено, что эти максимумы отличаются термостабильностью. Так, активность каталазы, определяемая при нейтральных значениях рН, снизилась на 30 % в нативных клетках и не изменилась в препаратах замороженных-размороженных бактерий в результате 3-часового нагревания при температуре 47 °С. Активность фермента, которую определяли в кислой области рН, снизилась до 10 % в интактных клетках за 3 часа термообработки, а в препаратах клеток после замораживания исчезла полностью за 80 мин. Два рН-оптимума каталазы отличались также чувствительностью к ингибитору азиду натрия. Обсуждаются возможные причины наличия двух максимумов активности каталазы в кишечной палочке.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Escherichia coli*, каталаза, рН-оптимум, нагревание, ингибирование.

CHARACTERISTICS OF TWO PEAKS OF CATALASE ACTIVITY IN *ESCHERICHIA COLI*

H.M. Semchyshyn, V.I. Lushchak

PREKARPATHIAN UNIVERSITY BY V. STEFANYK, IVANO-FRANKIVSK

Summary

In previous work we have found two peaks of catalase activity at pH 3,0-3,5 and 6,5-7,0 in partially destructed cells of *Escherichia coli* K12 KS400. Present work shows that these two maximums differ in their thermostability. Catalase lost 30 % activity in native bacteria and did not change in frozen-thawed cells at neutral pH after 3 hrs heating at 47 °C. At the same time the enzyme activity measured at pH 3,0 decreased to 10 % in intact bacteria after 3 hrs of experiment, the activity was not observed in frozen-thawed preparation after 80 min. Two pH-optimums are also different in their sensitivity to inhibitor sodium azide. The possible reasons for the presence of two catalase activity peaks in *E. coli* cells are discussed.

KEY WORDS: *Escherichia coli*, catalase, pH-optimium, heating, inhibition.

Отримано 21.06.2002 р.

Адреса для листування: В.И. Луцка, факультет природничих наук Прикарпатського університету ім. В. Стефаника, вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ, 76025, Україна.

L-АРГІНІН ЯК ЗАСІБ КОРЕКЦІЇ ПРОЦЕСІВ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПРИ РАДІАЦІЙНИХ УРАЖЕННЯХ У ЩУРІВ

Н.М. Кургалюк

Львівський національний університет ім. І.Я. Франка

Досліджено зміни функціонального стану мітохондрій печінки щурів полярографічним методом (АДФ-стимульоване дихання за Чансом) за умов рентгенівського опромінення в дозах 10, 20 та 30 Р і парентерального введення попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну (600 мг/кг) та блокатора синтази оксиду азоту L-NNA (35 мг/кг). Установлено, що L-аргінін нормалізує функціональний стан мітохондрій печінки опромінених тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: оксид азоту, L-аргінін, L-NNA, іонізуюче опромінення, мітохондрії, окиснювальне фосфорилування.

ВСТУП. Численні дослідження впливу опромінення на процеси енергозабезпечення доводять негативну дію цього чинника. При цьому велике значення мають доза, тривалість, частота та вид опромінення, фізіологічні та генетичні особливості організму. В нашій лабораторії вперше доведено, що активація окиснення у мітохондріях (МХ) такого енергетичного субстрату, як альфа-кетоглутарат (КГЛ) за умов активації парасимпатичної ланки вегетативної нервової системи при введенні в організм КГЛ після опромінення у летальній дозі призводить до зростання спряженості процесів дихання і фосфорилування, ефективності використання кисню для синтезу макроергів та підвищення виживання тварин [2]. Такий ефект надзвичайно важливий для повноцінного енергетичного забезпечення процесів репарації та відновлення ушкоджених систем організму при дії іонізуючих променів [3]. З'ясування ролі ацетилхоліну як ендogenousного вазоактивного регулятора, що стимулює продукцію оксиду азоту і впливає на стан МХ [4, 5], окреслює стратегію адаптаційних змін за умов іонізуючого опромінення.

Метою нашого дослідження було вивчення змін функціонального стану мітохондрій печінки щурів полярографічним методом за умов рентгенівського опромінення в дозах 10, 20 й 30 Р, парентерального введення попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну або блокатора синтази оксиду азоту L-NNA.

© Н.М. Кургалюк – к.б.н., 2002.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 72 щурах-самцях лінії Вістар, яких утримували в стаціонарних умовах віварію. Було проведено 3 серії дослідів. У кожній серії контрольну групу складали інтактні щури (по 6 тварин). Дослідних тварин (кожна група складалася також із 6 щурів) щоденно в той самий час доби піддавали рентгенівському опроміненню на апараті РУМ-17. Умови опромінення: напруга – 110 кВ; сила струму – 4 мА; фільтр – Cu 0,5 + Al 1; віддаль від джерела опромінення – 2 м; потужність дози – 0,2 Р/хв; час опромінення – 5 хв. У першій серії тварин опромінювали впродовж 10 діб, при цьому щурам цієї групи вводили внутрішньочеревно 1 мл фізіологічного розчину перед опроміненням, а іншим – 1 мл розчину L-аргініну (600 мг/кг) або блокатора синтази оксиду азоту L-NNA (35 мг/кг). У другій серії тварин опромінювали впродовж 20 діб до досягнення сумарної дози 20 Р та аналогічно щоденно вводили зазначені препарати. У третій серії опромінення здійснювали впродовж 30 діб за зазначених умов. Декапітацію тварин проводили після досягнення сумарних доз опромінення 10, 20 та 30 Р.

МХ печінки виділяли за схемою досліду, що дозволяє зберегти нативність ізольованих МХ. Використаний метод дає можливість ідентифікувати метаболічний стан МХ за Чансом [3]. Оцінювали такі показники дихання мітохондрій: V_3 – швидкість дихання мітохондрій після додавання АДФ, V_4 – швидкість конт-

рольованого дихання мітохондрій, АДФ/О – коефіцієнт фосфорилуючого дихання, V_{ϕ} – швидкість фосфорилування. Результати досліджень аналізували методом варіаційної статистики за Стьюдентом.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Наявні літературні дані свідчать про те, що за різних умов опромінення ушкоджуючий ефект різний, проте із збільшенням тривалості дії чинника негативний вплив зростає [1]. Про це свідчать результати наших досліджень щодо зниження процесів енергозабезпечення найважливішими субстратами циклу Кребса вже при опроміненні в найменшій дозі (10 Р). Результати досліджень наведено в таблицях 1 і 2. Опромінення в дозі 10 Р знижує процеси АДФ-стимульованого дихання при використанні як субстрату окиснення сукцинату (СК) на 32,29 % ($p < 0,01$) та спряженість процесів дихання і фосфорилування (дихальний коефіцієнт за Чансом) на 39,34 % ($p < 0,01$). Проте за цих умов не виявлено достовірних змін ефективності окиснювального фосфорилування (величини АДФ/О) та швидкості фосфорилування додатної АДФ. При окисненні КГЛ встановлено значне, порівняно із СК, зменшення всіх показників енергозабезпечення: дихання у стані V_3 , спряженості й ефективності окиснювального фосфорилування (ОФ). Таким чином, уже найменша доза опромінення викликає виражене зниження мітохондріального енергозабезпечення субстратами циклу трикарбонових кислот, що

може впливати на процеси репарації і відновлення ушкоджених структур навіть у радіо-резистентних органах, одним з яких є печінка.

У більш віддалені терміни опромінення (доза – 20 Р) встановлено деяку нормалізацію процесів мітохондріального енергозабезпечення при окисненні СК і КГЛ (величина стимульованого дихання у стані V_3 достовірно не відрізнялися від контрольних, проте ефективність і швидкість ОФ при окисненні зазначених субстратів залишалися значно нижчими, порівняно з контролем). Опромінення щурів щоденно в дозі 1 Р до досягнення сумарної дози 30 Р супроводжувалося активацією мітохондріального дихання та його основних параметрів: за умов окиснення СК і КГЛ виявлено зростання поглинання кисню, підвищення дихального коефіцієнта за Чансом, ефективності ОФ, однак швидкість ОФ залишалась на низькому рівні. При окисненні КГЛ встановлено збільшення швидкості поглинання кисню одночасно зі зниженням спряженості й ефективності ОФ. Таким чином, іонізуюче опромінення впродовж тривалого терміну дії найбільше пригнічує процеси енергозабезпечення, пов'язані з окисненням НАД-залежних субстратів, що супроводжується виснаженням систем мітохондріальної енергопродукції.

Результати, одержані нами за умов парентерального щоденного введення попередника біосинтезу оксиду азоту амінокислоти L-аргініну за 30 хв перед сеансом кожного опромінення, засвідчують радіопротекторний

Таблиця 1 – Зміни показників АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки щурів за умов досягнення сумарних доз опромінення 10, 20 та 30 Р під впливом L-аргініну або L-NNA при окисненні 0,35 мМ сукцинату

Умови досліджу		V_3 , нг ат О/хв·мг білка	V_3/V_4	АДФ/О, мкМ АДФ/ нг ат О·мг білка	V_{ϕ} мкМ АДФ/хв·мг білка
Дослідна група 1	Контроль	59,00±3,76	4,55±0,21	1,44±0,11	70,92±5,24
	Опромінення 10 Р	39,95±3,45*	2,76±0,21*	1,66±0,23	66,29±5,24
	L-аргінін і опромінення 10 Р	29,09±3,66	1,73±0,11**	1,16±0,23	22,27±3,54**
	L-NNA і опромінення 10 Р	76,12±8,23**	4,63±0,56**	1,12±0,09	46,80±6,24**
Дослідна група 2	Контроль	69,09±8,24	3,63±0,36	1,74±0,11	79,20±6,87
	Опромінення 20 Р	54,72±3,45	2,21±0,21*	0,99±0,11*	43,27±6,21*
	L-аргінін і опромінення 20 Р	36,92±3,66**	2,38±0,25	1,54±0,23	33,33±5,14
	L-NNA і опромінення 20 Р	62,01±6,87	3,71±0,33**	1,35±0,07**	43,24±4,24
Дослідна група 3	Контроль	77,85±8,01	3,21±0,41	1,44±0,10	99,20±9,05
	Опромінення 30 Р	119,23±10,87*	4,55±0,32*	1,39±0,24	43,27±6,21*
	L-аргінін і опромінення 30 Р	46,98±3,66**	2,00±0,25**	0,96±0,23	35,44±5,09
	L-NNA і опромінення 30 Р	53,25±5,35**	1,93±0,24**	1,17±0,07	62,51±8,70

Примітка. Тут і далі: * – зміни достовірні відносно контролю ($p < 0,05$);

** – зміни достовірні відносно показників опромінених тварин, яким препарати не вводилися.

Таблиця 2 – Зміни показників АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки щурів за умов досягнення сумарних доз опромінення організму 10, 20 та 30 Р під впливом L-аргініну або L-NNA при окисненні 1 мМ α -кетоглутарату ($M \pm m$, $n=6$)

Умови досліджу		V_3 , нг ат О/хв • мг білка	V_3/V_4	АДФ/О, мкМ АДФ/ нг ат О • мг білка	V_{ϕ} , мкМ АДФ/хв • мг білка
Дослідна група 1	Контроль	46,69±5,87	4,01±0,35	1,99±0,23	93,13±10,3
	Опромінення 10 Р	29,88±6,03	2,68±0,47**	1,12±0,09*	33,34±5,87*
	L-аргінін і опромінення 10 Р	18,75±4,08	2,86±0,07	2,68±0,14**	50,23±7,41
	L-NNA і опромінення 10 Р	96,16±9,87**	3,62±0,65	1,32±0,12	66,33±5,47**
Дослідна група 2	Контроль	39,02±5,24	3,63±0,46	2,65±0,09	89,21±9,01
	Опромінення 20 Р	37,82±3,45	3,70±0,21	1,41±0,04*	34,30±5,61*
	L-аргінін і опромінення 20 Р	25,26±3,66*	2,62±0,14**	1,94±0,23**	49,46±5,14
	L-NNA і опромінення 20 Р	24,54±6,87	2,18±0,33**	1,24±0,07	33,56±5,00
Дослідна група 3	Контроль	35,09±6,01	3,21±0,41	2,16±0,10	80,69±9,05
	Опромінення 30 Р	60,81±10,87	2,24±0,07*	1,05±0,24*	83,27±6,21
	L-аргінін і опромінення 30 Р	41,52±3,66	3,73±0,25**	2,32±0,23**	90,16±9,07
	L-NNA і опромінення 30 Р	36,77±5,08	3,75±0,24**	1,07±0,07	42,21±5,70**

ефект цього метаболіту. Зокрема, в початкові терміни експерименту (досягнення сумарної дози опромінення 10 Р) за умов окиснення СК встановлено достовірне зниження процесів мітохондріального метаболізму (дихального коефіцієнта за Чансом – на 37,3 %, $p < 0,01$, ефективності ОФ на 30,1% та швидкості фосфорилування). Для КГЛ, навпаки, незначне зменшення швидкості поглинання кисню в активному фосфорилувальному стані МХ супроводжувалося зростанням спряженості дихання й фосфорилування, ефективності та швидкості ОФ. При досягненні сумарних доз опромінення 20 і 30 Р зазначені ефекти інгібування окиснення СК під впливом L-аргініну поглиблюються, а ефективність окиснення КГЛ за цих умов достовірно зростає. Зокрема, при досягненні сумарної дози опромінення 30 Р виявлено найнижчий рівень мітохондріальних процесів енергозабезпечення при окисненні СК. Це проявлялося зниженням дихання у стані V_3 на 60,6 % ($p < 0,01$), дихального коефіцієнта – на 56 % ($p < 0,01$), величини АДФ/О – на 30,93 % та швидкості фосфорилування – на 23 % щодо значень у опроміненних щурів. При окисненні КГЛ за цих умов отримано підвищення рівня мітохондріального енергозабезпечення до рівня інтактних тварин. Ці зміни стосувалися зниження поглинання кисню в активному фосфорилувальному стані МХ на фоні підвищення величини спряженості, ефективності, швидкості дихання й фосфорилу-

вання. Ефекти блокатора синтази оксиду азоту в зазначені терміни експерименту повністю або частково нівелювали ефекти екзогенного оксиду азоту на процеси мітохондріального енергозабезпечення, пов'язані з окисненням інтермедіатів циклу трикарбонових кислот.

Отже, дослідження показників мітохондріального енергозабезпечення і системи NO, яка реалізує свій вплив через холінергічну ланку регуляції, підтверджує нашу концепцію про синергічну дію ацетилхоліну і КГЛ. Опосередкування ефектів екзогенного NO за участю КГЛ дозволяє пролонгувати реакцію холінергічних механізмів та може відігравати важливу роль у корекції метаболічних процесів організму в ранні терміни пострадіаційного періоду. Всі ці ефекти впливу екзогенного попередника біосинтезу оксиду азоту спрямовані на обмеження наслідків дії сильних негативних чинників на окисно-відновні процеси в мітохондріях, що призводять до роз'єднання процесів дихання та ОФ з погіршенням енергетичного забезпечення функцій клітини. Використання природного метаболіту енергетичного обміну, зокрема амінокислоти L-аргініну, є перспективним шляхом корекції радіаційного ушкодження організму.

ВИСНОВОК. Проведені експериментальні дослідження можуть бути передумовою до радіопротекторного застосування L-аргініну за умов іонізуючого опромінення організму в малих дозах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горинь О.В., Кургалюк Н.М. Вплив альфа-кетоглутарату на показники периферичної крові, перекисного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту опромінених щурів // Фізіол. журн. – 2000. – **46**, № 3. – С. 57-66.
2. Шостаковська І.В., Кургалюк Н.М., Бергтраум Д.І., Доліба М.М. Вплив парентерального введення α -кетоглутарату на резистентність щурів до іонізуючого опромінення та холінергічну систему їх організму // Фізіол. журн. – 1999. – **45**, № 1-2. – С. 127-133.
3. Chance B., Williams G. The respiratory chain and oxidative phosphorylation // Adv. Enzymol. – 1956. – **17**. – P. 65-134.
4. Giuffre A., Sarti A., D'Itri E. et al. Mechanism of inhibition of cytochrome c oxidase by nitric oxide // J. Biol. Chem. – 1996. – **271**. – P. 33404-33408.
5. Giulivi C. Functional implications of nitric oxide produced by mitochondria in mitochondrial metabolism // Biochem. J. – 1998. – **332**. – P. 673-679.

L-АРГИНИН КАК СПОСОБ КОРРЕКЦИИ ПРОЦЕССОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ У КРЫС

Н.Н. Кургалюк

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И. Я. ФРАНКО

Резюме

Исследованы изменения функционального состояния митохондрий печени крыс полярографическим методом (АДФ-стимулируемое дыхание по Чансу) в условиях рентгеновского облучения в дозах 10, 20 и 30 Р и парентерального введения предшественника биосинтеза окиси азота L-аргинина (600 мг/кг) и блокатора синтазы окиси азота L-NNA (35 мг/кг). Установлено, что экзогенный L-аргинин нормализирует функциональное состояние митохондрий печени облученных животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: окись азота, L-аргинин, L-NNA, ионизирующее облучение, митохондрии, окислительное фосфорилирование.

L-ARGININE AS MEANS OF MITOCHONDRIAL ENERGOSUPPORTING CORRECTION AT RADIATIVE INJURIES IN RATS

N.M. Kurhalyuk

LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY I. YA. FRANKO

Summary

There have been investigated the changes of rat liver mitochondria functional states by polarographic method (ADP-stimulated respiration by Chance) in ionizing radiation conditions in doses 10, 20 and 30 Roentgen and parenteral administration of precursor of nitric oxide biosynthesis L-arginine (600 mg/kg) and blocator of nitric oxide synthase L-NNA (35 mg/kg). Exogenous L-arginine was established to normalize the functional state of liver mitochondria in irradiated animals.

KEY WORDS: nitric oxide, L-arginine, L-NNA, ionizing radiation action, mitochondria, oxidative phosphorylation.

Отримано 16.01.2002 р.

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

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ У ДОРОСЛИХ ТА СТАРИХ ТВАРИН З АДРЕНАЛІНОВОЮ МІОКАРДІОДИСТРОФІЄЮ

О.Б. Сусла, І.Р. Мисула, Н.Є. Лісничук

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено динаміку показників гуморального імунітету, фагоцитозу та активності комплементу в дорослих і старих щурів за дії кардіотоксичної дози адреналіну. Встановлено, що адреналінова міокардіодистрофія супроводжувалася суттєвими змінами імунного гомеостазу в обох групах тварин, причому порушення були більш вираженими у старих щурів, що підтверджувалося значно тривалішою реституцією досліджуваних імунологічних параметрів до кінця експерименту. Зроблено висновок про доцільність застосування імунокоригувальних засобів при пошкодженнях серця стресового генезу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: адреналінова міокардіодистрофія, імунологічна реактивність, гуморальний імунітет, фагоцитоз, дорослі й старі щури.

ВСТУП. Протягом останніх років усе більше уваги приділяється ролі й значенню змін імунологічної реактивності в розвитку стресорних та некротичних ушкоджень серця [8, 10, 11, 12]. Проте природа формування імунопатологічних реакцій у цих умовах залишається недостатньо з'ясованою.

Дослідженнями вітчизняних та зарубіжних авторів переконливо доведено появу зрушень в імунній системі під час стресу, причому вираження цих змін залежить від стадії стресу, його інтенсивності, тривалості та вихідного функціонального стану організму [13].

Особливо перспективним і цікавим є дослідження цього питання з позиції вікової реактивності організму.

У літературі є окремі дані, що стосуються вивчення вікових змін імунного статусу в умовах стресу [6, 15, 16, 17, 18] та некротичного ушкодження серця [14], проте вони неоднозначні та суперечливі.

Метою даної роботи було встановлення вікових особливостей змін імунологічної реактивності при дії кардіотоксичної дози адреналіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на 40 дорослих (8-10 міс.) та 40 старих (20-24 міс.) білих нелінійних щурах-самцях, яких утримували в звичайних умовах та на стандартному раціоні віварію. Контрольну групу склали 20 тварин (по 10 щурів у кожній

віковій групі). Адреналінову міокардіодистрофію (АМД) викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням адреналіну гідрохлориду в дозі 0,5 мг·кг⁻¹ [9]. Евтаназію тварин проводили в умовах тіопентал-натрієвого знеболювання через 1, 3, 7 та 14 діб після ін'єкції. Концентрацію сироваткових імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) вивчали за методикою, що базується на фракціонуванні білків сироватки крові органічними розчинниками і буферними розчинами з утворенням білково-буферних комплексів (Е.Ф. Чернушенко, Л.С. Когосова, 1978). Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові встановлювали за преципітацією розчином поліетиленгліколю-6000 (Ю.А. Гриневич, А.М. Алферов, 1981). Стан фагоцитарної здатності лейкоцитів (фагоцитарне число (ФЧ) і відносну кількість фагоцитуючих лейкоцитів (% ФЛ)) визначали за поглинанням золотистого стафілокока (штам 286) з добової культури (Е.Ф. Чернушенко, Л.С. Когосова, 1978). Активність комплементу визначали колориметричним методом за допомогою сенсibiliзованих гемолізином еритроцитів, які гемолізувались при наявності комплементу (А.С. Козлюк, Л.А. Анисимов, І.Г. Шройт, 1987).

Одержаний цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Порівняльний аналіз концентрації сироваткових імуноглобулінів класів А, М, G інтактних тварин обох вікових груп показав, що в старих щурів,

© О.Б. Сусла, І.Р. Мисула – д.м.н., проф., Н.Є. Лісничук – к.б.н., 2002.

на відміну від дорослих, рівень Ig A був достовірно вищим на 21,9 % ($p < 0,05$), Ig G – на 17,0 % ($p < 0,01$) (табл. 1). Поряд із цим, рівень Ig M у сироватці крові згаданих вище груп тварин суттєво не відрізнявся. Вміст ЦІК у сироватці крові старих інтактних щурів в 1,62 раза перевищував аналогічний показник дорослих тварин ($p < 0,001$). Показники фагоцитарної активності лейкоцитів цільної крові дорослих і старих здорових щурів також були відмінними. Так, в останніх, порівняно з молодшою віковою групою, виявлено достовірно нижчі значення ФЧ ($p < 0,01$), а % ФЛ – вірогідно не відрізнявся. Комплементарна активність сироватки крові старих щурів за нормальних умов була суттєво нижчою, ніж у дорослих ($p < 0,05$). Отримані результати узгоджуються з літературними даними, оскільки підвищення рівня ЦІК, концентрації основних класів імуноглобулінів у сироватці крові на фоні зниження потужності фагоцитарної системи та активності комплементу є характерними рисами імунітету в старості [2].

Розвиток АМД спричиняв суттєві порушення імунного гомеостазу в обох групах тварин впродовж усього періоду спостереження, причому найбільш істотні зміни стосувалися щурів старшої вікової групи.

Концентрації основних класів імуноглобулінів (A, M, G) підвищувалися нерівномірно та диспропорційно, що вказувало на напруженість та нестабільність імунологічної резистентності організму. Це підтверджувалося динамікою показників фагоцитарної активності лейкоцитів та ЦІК (табл. 1).

Виражена дисімуноглобулінемія та поліклональна активація імуноглобулінів, зростання кількості ЦІК у перші доби експерименту, на наш погляд, є результатом безпосередньої дії стресорного гормону адреналіну на імунокомпетентні органи і тканини [13], а також реакцією організму на модифіковані білки міокарда [7]. У вказаний період, імовірно, має місце пригнічення активності імунної системи щодо утилізації антигенів, якими в даному випадку є ендogenous речовини зруйнованих клітин та метаболіти обмінних процесів [11]. Високий рівень ЦІК у тварин обох вікових груп на 7-у добу АМД, очевидно, викликаний деструкцією клітинних мембран у серцевому м'язі, постійним утворенням антигенів при руйнуванні кардіоміоцитів та підвищеним вмістом імуноглобулінів, які беруть участь у формуванні імунних комплексів. Неабияке значення в даному випадку має пригнічення фагоцитарної активності лейкоцитів. Порівняно менший рівень зростання вмісту ЦІК у тварин старшої

вікової групи, можливо, пояснюється порушенням при старінні імунних реакцій у відповідь на дію кардіотоксичної дози адреналіну [2].

У механізмі пригнічення фагоцитарної системи за умов адренергічного впливу, ймовірно, мають місце переваження лейкоцитів імунними комплексами та продуктами деградації білка [3], наростання ознак інтоксикації з можливими структурними пошкодженнями самих нейтрофілів [5]. Треба сказати, що при розвитку АМД у старих експериментальних тварин, на відміну від дорослих, пригнічення фагоцитарної системи відбувалося вже на 1-у добу експерименту. Це можна пояснити порушенням при старінні регулюючого впливу зовнішніх та внутрішніх факторів на поглинальну здатність лейкоцитів [3], меншою здатністю старого організму до компенсації.

Під час проведення порівняльного аналізу комплементарної активності сироватки крові обох груп тварин за розвитку АМД було виявлено достовірне її зростання вже на 1-у добу експерименту та стійке підвищення впродовж усього періоду спостереження, причому більшою мірою у тварин молодшої вікової групи (табл. 1). Отже, імунні комплекси при надлишку антигенів чи антитіл посилюють активність комплементу настільки, що він може перевищувати контрольні показники [11]. Можливо, в умовах адренергічного впливу печінка посилено синтезує компоненти системи комплементу.

Аналізуючи динаміку показників гуморального імунітету та фагоцитозу в більш пізні терміни спостереження (7-14 доби експерименту), варто відзначити високу активність імунної системи протягом цього періоду, на що вказує статистично достовірне підвищення основних імунологічних параметрів (ЦІК, Ig M, Ig G) як у старих, так і в дорослих щурів (табл. 1). Це вказує на безсумнівну участь імунних факторів у процесах репарації серцевого м'яза, оскільки зв'язок регенераційних та імунологічних реакцій організму доведений [1]. До кінця експерименту показники фагоцитарної активності лейкоцитів у дорослих експериментальних тварин наближалися до рівня контрольних значень при стійкому пригніченні їх у старих. Ці дані свідчать про незавершеність патологічного процесу, що більш виражено у старих щурів. Слід вказати, що концентрація ЦІК у дорослих щурів від 7-ї до 14-ї доби експерименту знизилася на 29,8 % ($p < 0,001$). Водночас, у тварин старшої вікової групи у ці ж терміни спостерігалася лише тенденція до зниження ЦІК ($p > 0,05$). Тривала циркуляція імунних комплексів як наслідок

Таблиця 1 – Динаміка показників гуморального імунитету, ЦІК, фагоцитарної здатності лейкоцитів та активності комплементу в дорослих і старих тварин у різні періоди дії кардіотоксичної дози адреналіну

Вік	Показник	Інтактні щури (n=10)	Щури після введення кардіотоксичної дози адреналіну через			
			1 добу (n=10)	3 доби (n=10)	7 діб (n=10)	14 діб (n=10)
8-10 міс.	ЦІК, ум. од.	37,40±1,80	98,80±5,27***	117,50±5,70*** #	105,60±6,08***	74,10±4,48*** ###
	Ig A, г·л ⁻¹	0,470±0,029	0,875±0,042***	0,640±0,036** ##	0,655±0,034***	0,503±0,031##
	Ig M, г·л ⁻¹	0,385±0,025	0,863±0,050***	0,710±0,033***	0,660±0,042***	0,515±0,033**
	Ig G, г·л ⁻¹	3,173±0,092	4,822±0,257***	4,570±0,134***	5,019±0,290***	3,975±0,135*** ##
	ФЧ	3,052±0,042	2,936±0,039	2,572±0,021*** ###	2,692±0,066***	2,872±0,057*
	%ФЛ	30,15±0,49	29,03±0,70	28,12±0,66*	27,70±0,40**	29,11±0,33#
	Комплемент, гем. од.	36,85±0,85	43,14±1,07***	55,09±1,47*** ###	42,26±0,98*** ###	40,44±0,50**
20-24 міс.	ЦІК, ум. од.	60,80±3,61	99,70±6,18***	111,00±7,08***	117,80±6,51***	105,20±6,08***
	Ig A, г·л ⁻¹	0,573±0,033	0,765±0,047**	0,735±0,043**	0,790±0,048**	0,680±0,041
	Ig M, г·л ⁻¹	0,403±0,015	0,523±0,035**	0,708±0,044*** ##	0,725±0,038***	0,625±0,030***
	Ig G, г·л ⁻¹	3,711±0,131	5,157±0,322***	5,234±0,292***	5,305±0,306***	5,033±0,161***
	ФЧ	2,822±0,047	2,622±0,060*	2,114±0,032*** ###	2,107±0,039***	2,382±0,032*** ###
	%ФЛ	29,11±0,52	27,35±0,47*	25,22±0,46*** ##	25,03±0,48***	27,26±0,41* ##
	Комплемент, гем. од.	33,91±0,78	37,50±0,90**	46,11±1,48*** ###	47,27±1,12***	31,81±0,86###

Примітка.

1.* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 – зміни достовірні, порівняно з інтактними щурами;

2. # – p<0,05; ## – p<0,01; ### – p<0,001 – зміни достовірні, порівняно з даними попереднього терміну спостереження.

дефекту фагоцитарної системи, можливо, синтезу низькоавідних антитіл, різкого пригнічення Т-клітинних реакцій вказує на порушення імунорегуляторних функцій [4]. Особливістю імунологічної реактивності старого організму за умов адренергічного впливу є надто сповільнена репарація ушкоджень [15], створення фону для формування патогенних імунних комплексів, відкладання їх у тканинах та судинах, що призводить до подальшого пошкодження і прогностично є вкрай несприятливим. Швидка елімінація ЦІК з організму свідчить про кращий стан імунної системи [4].

Таким чином, враховуючи динаміку імунологічних параметрів, тварини з вищою активністю імунної системи більш резистентні до дистресу, моделлю якого є АМД. Стан імунної системи – один з факторів, що визначає кардіотоксичність адреналіну.

ВИСНОВКИ. 1. Адреналінова міокардіодистрофія супроводжується суттєвими змінами імунного гомеостазу організму, диспропорційно зростає вміст основних класів імуноглобулінів, рівень циркулюючих імунних комплексів, активність комплементу та знижується фагоцитарна активність лейкоцитів. Ці порушення більш виражені у старих тварин.

2. Стітке підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів, високі значення сироваткових імуноглобулінів основних класів та глибока депресія фагоцитарної системи у старих щурів вказують на значно тривалішу реституцію їх імунологічних параметрів до 14-ї доби адреналінової міокардіодистрофії.

3. Розвиток імунних порушень обґрунтовує доцільність застосування імунокоригувальних засобів при пошкодженнях серця стресового генезу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г., Зотиков Е.А. Иммунология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений. – М.: Наука, 1987. – 207 с.
2. Бутенко Г.М. Иммунитет при старении // Международный мед. журн. – 1999. – № 2. – С. 6-10.
3. Бутенко Г.М., Терешина О.П. Функциональная активность системы мононуклеарных фагоцитов – влияние возраста и иммунных комплексов // Иммунол. – 1992. – № 3. – С. 15-17.
4. Гаевська М.Ю. Циркулюючі імунні комплекси за умов норми і патології // Вісн. наук. досл. – 2000. – № 4. – С. 37-40.

5. Дорошак І., Лихацький П., Мудь О. і ін. Вплив структурних порушень нейтрофілів крові на їх фагоцитарну активність // IV Міжнародний конгрес студентів і молодих вчених: Тези доп. – Тернопіль, 2000. – С. 364.
6. Кричовская Л.В., Донченко Г.В. Коррекция бистимуляторами иммунологической и антиоксидантной систем организма крыс разного возраста // Пробл. стар. и долголет. – 2001. – **10**, № 2. – С. 141-146.
7. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. – М.: Наука, 1990. – 224 с.

8. Люлька Н.О. Сучасні погляди на етіологію та патогенез інфаркту міокарда // Вісн. наук. досл. – 2000. – № 1. – С. 6-11.

9. Мисула І.Р. Особливості стресорного ушкодження серця в старості і способи його попередження: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Одеса, 1996. – 38 с.

10. Мойбенко А.А., Сагач В.Ф. Иммуногенные нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы. – К.: Наукова думка, 1992. – 202 с.

11. Мощич П.С., Гаєвська А.В., Марушко Ю.В. та ін. Гуморальні імунологічні аспекти патогенезу ревматизму, неревматичного кардиту та ювенільного ревматоїдного артриту у дітей // Лік. справа. – 2001. – № 5-6. – С. 48-52.

12. Першин С.Б., Кончугова Т.В. Стресс и иммунитет. – М.: Крон-Пресс, 1996. – 160 с.

13. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) // Пат. физиол. – 2001. – № 2. – С. 26-30.

14. Слейко Л.П. Прогнозирование осложнений острого инфаркта миокарда у больных гериатрического возраста // XIV з'їзд терапевтів України: Тези доп. – Київ, 1998. – С. 256-257.

15. Хирокава К., Утсуямо М., Кураншима И. и др. Стресс, иммунитет и старение // Пробл. стар. и долголет. – 1992. – 2, № 4. – С. 347-355.

16. Horohov D.W., Dimock A., Guirnalda P. et al. Effect of exercise on the immune response of young and old horses // Am. J. Vet. Res. – 1999. – 60, № 5. – P. 643-647.

17. Mazzeo R.S., Rajkumar C., Rolland J. et al. Immune response to a single bout of exercise in young and elderly subjects // Mech. Ageing Dev. – 1998. – 100, № 2. – P. 121-132.

18. Naliboff B.D., Benton D., Solomon G.F. et al. Immunological changes in young and old adults during brief laboratory stress // Psychosom. Med. – 1991. – 53, № 121-132. – P. 12-15.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ ЖИВОТНЫХ С АДРЕНАЛИНОВОЙ МИОКАРДИОДИСТРОФИЕЙ

А.Б. Сусла, И.Р. Мисула, Н.Е. Лисничук

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Реферат

Изучена динамика показателей гуморального иммунитета, фагоцитоза и активности комплемента у взрослых и старых крыс при действии кардиотоксической дозы адреналина. Установлено, что адреналиновая миокардиодистрофия сопровождалась существенными изменениями иммунного гомеостаза в обеих группах животных, причем нарушения были более выраженными у старых крыс, что подтверждалось более длительной реституцией исследуемых иммунологических параметров к концу эксперимента. Сделано вывод о целесообразности применения иммунокорректирующих средств при повреждениях сердца стрессорного генеза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: адреналиновая миокардиодистрофия, иммунологическая реактивность, гуморальный иммунитет, фагоцитоз, взрослые и старые крысы.

CHARACTERISTICS OF IMMUNE REACTIVITY CHANGES IN OLD AND ADULT RATS WITH EPINEPHRINE MYOCARDIAL DYSTROPHY

O.B. Susla, I.R. Mysula, N.Ye. Lisnychuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Serial changes of humoral immunity indices, phagocytosis, and complement activity in adult and old rats after administration of cardiotoxic epinephrine dose were studied. Epinephrine myocardial dystrophy was established to be accompanied by the significant changes of immune homeostasis in both group, being more prominent in old rats with a significantly longer recovery period. It has been concluded that immunomodulating drugs should be used at heart injures of stress genesis.

KEY WORDS: epinephrine myocardial dystrophy, immune reactivity, humoral immunity, phagocytosis, adult and old rats.

Отримано 16.01.2002 р.

Адреса для листування: О.Б. Сусла, бульв. Д. Галицького, 22/24, Тернопіль, 46011, Україна.

ЗМІНИ ЩІЛЬНОСТІ КІСТОК ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ОСТЕОПОРОЗУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЖІНОК, ЯКІ ПРИЙМАЛИ ЕСТРОГЕНИ ПІСЛЯ ОПЕРАТИВНОГО ВИДАЛЕННЯ МАТКИ З ПРИДАТКАМИ З ПРИВОДУ ФІБРОМІОМИ

М.Г. Бульса

ПОМОРСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ЩЕЦИН, ПОЛЬЩА

У 133 жінок дітородного віку проводили визначення індексу маси тіла (ВМІ), дослідження щільності шийки стегнової кістки. У сироватці крові визначали активність лужної фосфатази, рівень кальцію, фосфору, а також остеокальцину. Встановлено, що при застосуванні жінками естрогенів після видалення матки з придатками з приводу фіброміоми збільшується щільність кісткової тканини, а показник ВМІ не змінюється.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: видалення матки з придатками, фіброміома матки, естрогени, остеопороз.

ВСТУП. Остеопороз – досить поширена патологія, що має значний вплив на стан здоров'я та соціально-економічні умови в багатьох країнах світу [18]. Хвороба супроводжується зменшенням кісткової маси та зростанням ламкості кісток. У людей похилого віку ця хвороба пов'язана із старінням остеобластів [14], а також із зміною кісткової маси [7].

Метою роботи було дати оцінку міцності кісток, рівню кальцію, фосфору, лужної фосфатази й остеокальцину в здорових жінок дітородного віку та в жінок, яким видалили матку з придатками.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 133 жінках, яких поділили на 3 групи. До першої групи входило 53 жінки віком 47-49 років, яким видалили матку і придатки з приводу фіброміоми. Через 3 роки після проведення операції вони отримували річну гормональну терапію, приймаючи премарин (естроген) фірми "Wyeth-Lederle" у кількості 0,625 мг 1 раз на день. У цих жінок протягом 3-х років після операції, з огляду на відсутність згоди, гормональну терапію не застосовували. Однак внаслідок зміни якості життя та наявності кардіологічних показань хворі погодилися пройти курс лікування гормональними препаратами.

До другої групи входило 49 жінок віком 48-51 рік, яким прооперували з приводу фіб-

роміоми матки. У них існували протипоказання до застосування гормональної терапії (онкологічні захворювання молочної залози I ступеня у членів родини, тромбофлебіт). У момент проведення обстеження жінки прожили після операції 3 роки і не приймали жодних ліків.

Третю групу (контрольну) складала 31 жінка віком 47-49 років, в яких виявлено фіброміому, але оперативне втручання не було необхідним або ж хворі не давали згоди на операцію.

У всіх обстежуваних вираховували індекс маси тіла (ВМІ), проводили дослідження щільності шийки стегнової кістки, в сироватці крові визначали рівень кальцію, фосфору і лужної фосфатази, а також остеокальцину. Дослідження мінеральної щільності кісткової тканини виконано методом DEXA на апараті Lunar DPX-L. Рівень кальцію, фосфору і лужної фосфатази визначали на апараті Olympus AU 560, а рівень остеокальцину – радіоімунологічним методом на апараті Osteocalcin I 125 RIA, INCSTAR Corporation.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Виявлено, порівняно з контрольною групою, зниження щільності кісток (ВМД) у жінок, яким видалили матку з придатками, через кілька років після операції. Встановлено, що проведення гормональної терапії, яка тривала 12 місяців, спричиняє значне збільшення кісткової маси.

© М.Г. Бульса – PhD, 2002.

Виявлені показники не є вищими, ніж у групі жінок, яких не оперували. Подібними є показники зміни рівнів T і Z-score (табл. 1).

Виявлено також досить низький рівень кальцію в групі жінок, яким видалили матку і не застосовували гормональної терапії. Це може свідчити про збільшену втрату цього елемента або збільшене його використання в результаті кісткової резорбції. Не спостерігалось значних відмінностей у рівнях фосфору в групах, які не пройшли гормональної терапії. Виявлено статистично достовірне зниження вмісту фосфору в групі жінок, які приймали естрогени (табл. 2).

Зміни рівнів показників стану кісткової тканини – лужної фосфатази та остеокальцину – були подібними. Виявлено значне їх зростання після видалення матки з додатками і статистично достовірне їх зниження до рівня перед хірургічним каструванням у результаті гормональної терапії естрогенами (табл. 3).

У всіх досліджуваних групах вираховано показник BMI шляхом поділу маси (кг) на зріст (м). Відзначено, що в першій групі він становив 26,31, в другій – 26,82, в третій – 27,11. Виявлені відмінності не були статистично достовірними.

Протягом останнього десятиріччя для лікування остеопорозу впроваджено нові методи [12, 16]. Ця дія спрямована на затримування остеокластичної активності, в результаті чого пригнічується резорбція. Антирезорбційна терапія при застосуванні естрогенів, класцитоніну, або біфосфоніанів дозволяє процесам утворення кісток врівноважити або перевищити

процеси кісткової резорбції. Виявлено, що естрогени зменшують темпи втрати кісткової маси в жінок після менопаузи [17] і знижують частоту переломів шийки стегнової кістки [11]. Доведено, що найбільше користі приносить естрогенна терапія, але якщо розпочати її відразу ж після менопаузи. Якщо терапію перервати, то швидко зникає будь-який ефект [2, 9]. Це підтверджують наші дослідження, коли після застосування естрогенів у жінок після кастрації зменшується щільність кісткової маси, а також знижуються рівні лужної фосфатази, остеокальцину і фосфору. Виявлено, що вміст T-score для шийки стегнової кістки становить 1, що, з огляду на вік, збільшує ризик ламання кістки стегнової шийки у 2,6 раза [3]. Це підтверджують наші дослідження, коли в контрольній групі спостерігалися подібні показники, а також значне їх зниження у жінок після кастрування, які не застосовували естрогенів. Багато епідеміологічних досліджень [2, 15] вказують на захисний вплив естрогенів. У переважній більшості випадків ці дослідження стосуються лікування премаріном в одноразовій дозі 0,625 мг без додавання прогестеронів. Даний препарат є сумішшю 10 складників, з яких найважливішими є естрон та еквілін. Доза естрогенів спричиняє збільшення рівня естрадіолу до 70 пкг/мл, який оберігає кісткову масу [8].

Остеокальцин – це кістковий білок, який виробляється остеобластами. Виявлено, що, чим вищий рівень остеокальцину, тим інтенсивніше відбувається перебудова скелета і тим

Таблиця 1 – Рівень BMD та показників T- і Z-score у жінок після оперативного видалення матки з додатками та проведення гормональної терапії (M±m)

Показник	Перша група	p(1)	Друга група	p(2)	Третя група	p(3)
BMD	0,89±0,32	p(1)< 0,001	0,76±0,41	p(2)< 0,001	0,95±0,39	p(3)< 0,05
T-score	-1,89±0,72	p(1)< 0,001	-2,63±1,51	p(2)< 0,001	-1,09±0,29	p(3)< 0,01
Z-score	-0,53±0,21	p(1)< 0,001	-1,23±0,73	p(2)< 0,001	+0,11±0,04	p(3)< 0,01

Примітка. BMD (Bone Mineral Density) – щільність кістки, г/см²; T-score – у стандартних відхиленнях виражає величину різниці кісткової щільності обстежуваного пацієнта та кісткової щільності здорових 35-річних пацієнток; Z-score – у стандартних відхиленнях виражає величину різниці обстежуваного пацієнта та середню величину для контрольної групи того ж віку, статі та висоти; p(1) – рівень достовірності між першою та другою групами; p(2) – рівень достовірності між другою та третьою групами; p(3) – рівень достовірності між першою та третьою групами; NS – статистично не достовірні зміни.

Таблиця 2 – Рівень кальцію та фосфору в плазмі крові жінок після оперативного видалення матки з додатками та проведення гормональної терапії (M±m)

Показник	Перша група	p(1)	Друга група	p(2)	Третя група	p(3)
Кальцій, ммоль/л	2,44±1,56	p(1)<0,05	2,27±1,43	p(2)<0,05	2,42±1,61	NS
Фосфор, ммоль/л	1,03±0,75	p(1)<0,01	1,22±0,76	NS	1,18±0,83	p(3)< 0,05

Примітка. Кальцій (Ca) – норма 2,12 ммоль/л до 2,62 ммоль/л; фосфор (P) – норма 0,97 ммоль/л до 2,20 ммоль/л; p(1) – рівень достовірності між першою та другою групами; p(2) – рівень достовірності між другою та третьою групами; p(3) – рівень достовірності між першою та третьою групами; NS – статистично не достовірні.

Таблиця 3 – Активність лужної фосфатази та вміст остеокальцину в жінок після оперативного видалення матки з придатками та проведення гормональної терапії (M±m)

Показник	Перша група	p(1)	Друга група	p(2)	Третя група	p(3)
Лужна фосфатаза, нкат/л	0,98±0,53	p(1)<0,001	1,82±0,77	p(2)<0,001	1,09±0,56	NS
Остеокальцин, мкг/л	6,91±3,14	NS	7,34±3,92	p(2)<0,01	5,41±3,02	p(3)<0,05

Примітка. Лужна фосфатаза – норма 1,3 нкат/л до 2,6 нкат/л; остеокальцин – норма для жінок 5,3 мкг/л до 6,3 мкг/л, причому у жінок після 50 років середній рівень становить 10,5 мкг/л; p(1) – рівень достовірності між першою та другою групами; p(2) – рівень достовірності між другою та третьою групами; p(3) – рівень достовірності між першою та третьою групами; NS – статистично не достовірні зміни.

нижча його щільність [1, 6], що підтверджують наші дослідження. З'ясовано, що рівень остеокальцину знижується під час приймання естрогенів [5], що також підтверджують наші дослідження.

Повна активність фосфатази є сумою складників кишкового, кісткового та печінкового походження, а тому результат не є специфічним, що особливо важливо при незначних відхиленнях перебудови кісток. Майже половина загального вмісту ферменту виробляється остеобластом, тому його зростання можна спостерігати у пацієток з остеопорозом [10]. Підтвердженням цього факту є також наші дослідження.

Скелет містить 99,5 % кальцію, при потребі його рівень поповнюється із сироватки крові. Оскільки основна кількість кальцію надходить в організм через кишечник, видається звичайним, що кальцій, який ми отримуємо з їжею, повинен бути одним з головних чинників, що сприяють його накопиченню й утримувannya в скелеті. Доведено, що в жінок з пізньою менопаузою збільшення споживання кальцію спричиняє достовірне зростання BMD [4]. В період менопаузи початковим явищем є не-

достатня кількість естрогенів, а застосування самого елемента не компенсує його вмісту. Не встановлено, щоб приймання кальцію в дуже великих дозах компенсувало недостатність естрогенів. Доведено, що в жінок, які не застосовують естрогенів, приблизно 1500 мг кальцію щодня не викликають врівноваження кальцієвого балансу [13]. В наших дослідженнях рівень кальцію утримувався в межах норми, а підвищення рівня остеокальцину супроводжувалося зростанням рівня фосфору. Вищий рівень фосфору може шкідливо впливати на кістки, спричиняючи остеопороз. Щоб мати краще уявлення про вплив фосфору та його зв'язок з остеопорозом, слід говорити про взаємовплив кальцію та фосфору, що вимагає подальших ґрунтовних досліджень.

ВИСНОВКИ. 1. Застосування естрогенів після видалення матки та придатків з приводу фіброміоми сприяє збільшенню щільності кісткової тканини, що попереджує виникнення остеопорозу.

2. Показник маси тіла BMI у жінок, які приймали естрогени після видалення матки з придатками, під впливом естрогенів не змінюється.

ЛІТЕРАТУРА

1. Brown J.P., Malaval L., Chapuy M.C. et al. Serum bone gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis // *Lancet*. – 1984. – № 1. – P. 1091-1093.

2. Cauley J.A., Seeley D.G., Ensmid K. et al. Estrogen replacement therapy and fractures in older women. Study of osteoporotic fractures research group // *Ann. Intern. Med.* – 1995. – **122**. – P. 9-16.

3. Cummings S.R., Black D.M., Nevitt M.C. et al. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. The study of osteoporotic fractures research group // *Lancet* 1993. – **341**. – P. 72-75.

4. Dawson-Hughes B., Dallal G.E., Krall E.A. et al. A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women // *N. Engl. J. Med.* 1990. – **323**, № 87. – P. 8-883.

5. Delmas P.D., Malaval L., Arlot M. et al. Serum bone gla-protein compared to histomorphometry in endocrine diseases // *Bone*. – 1985. – № 6. – P. 329-341.

6. Delmas P.D., Wahner H.W., Mann K.G. et al. Assessment of bone turnover in postmenopausal osteoporosis by measurement of bone gla-protein // *J. Lab. Clin. Med.* – 1983. – **102**. – P. 470-476.

7. Ensrud K.E., Palermo L., Black D.M. et al. Hip and calcaneal bone loss increase with advancing age: longitudinal results from the study of osteoporotic fractures // *J. Bone. Miner. Res.* – 1995. – № 10. – P. 1778-1787.

8. Ettinger B., Czenant K., Steiger P. et al. Low-dosage micronized 17-beta estradiol prevents bone loss in postmenopausal women // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1992. – **166**. – P. 479-488.

9. Ettinger B., Grady D. The waning effect of postmenopausal estrogen therapy on osteoporosis // N. Engl. J. Med. – 1993. – **329**. – P. 1192-1193.

10. Farley J.R., Chestnut C.H., Baylink D.J. Improved method for quantitative determination in serum of alkaline phosphatase of skeletal origin // Clin-Chem. – 1981. – **27**. – P. 2002-2007.

11. Gordon M., Huang J. Monograph series on aging-related diseases // Osteoporosis. Chron. Dis. Canada. – 1995. – **16**. – P. 1-23.

12. Harris S.T., Watts N.B., Genant H.J.K. et al. Effects of risedronate treatment on vertebral and non-vertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis // JAMA. – 1999. – **282**. – P. 1344-1352.

13. Heaney R.P., Recker R.R., Saville P.D. Calcium balance and calcium requirements in middle-aged women // Am. J. Clin. Nutr. – 1977. – **30**. – P. 1603-1611.

14. Jilka R.L., Weinstein R.S., Takahashi K. et al. Linkage of decreased bone mass with impaired osteoblastogenesis in a murine model of accelerated senescence // J. Clin Invest. – 1996. – **97**. – P. 1732-1740.

15. Kanis J.A., Johnell O., Gullberg B. et al. Evidence for efficacy of drugs affecting bone metabolism in preventing hip fracture // Brit. Med. J. – 1992. – 305. – P. 1124-1128.

16. Liberman U.A., Weiss S.R., Broil J. et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis // N. Engl. J. Med. – 1995. – **333**. – P. 1437-1443.

17. Lindsay R., Tohme J.F. Estrogen treatment of patients with established postmenopausal osteoporosis // Obstet. Gynecol. 1990. – **76**. – P. 294-295.

18. Melton L.J. Hip fracture: a worldwide problem today and tomorrow // Bone. – 1993. – **14**. – P. 51-58.

ИЗМЕНЕНИЯ ПЛОТНОСТИ КОСТЕЙ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОСТЕОПОРОЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН, ПРИМЕНЯВШИХ ЭСТРОГЕНЫ ПОСЛЕ ОПЕРАТИВНОГО УДАЛЕНИЯ МАТКИ С ПРИДАТКАМИ ПО ПОВОДУ ФИБРОМИОМЫ

М.Г. Бульса

ПОМОРСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ, ШЕЦИН, ПОЛЬША

Резюме

У 133 женщин детородного возраста проводили определение индекса массы тела (ВМИ), исследование плотности шейки бедренной кости. В сыворотке крови определяли активность щелочной фосфатазы, уровень кальция, фосфора, а также уровень остеокальцина. Установлено, что при применении женщинами эстрогенов после удаления матки с придатками по поводу фибромиомы увеличивается плотность костной ткани, а показатель ВМИ не изменяется.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: удаление матки с придатками, фибромиома матки, эстрогены, остеопороз.

CHANGES OF BONES DENSITY AND BIOCHEMICAL INDICES OF OSTEOPOROSIS IN BLOOD SERUM OF WOMEN, WHO USED ESTROGENS AFTER OPERATIVE REMOVING OF UTERUS WITH APPENDAGES CONCERNING FIBROMYOMA

M.G. Balsa

POMORSK MEDICAL ACADEMY, SHCHETSIN, POLAND

Summary

At 133 women of bearing age the determination of body mass coefficient (BMI), the examination of femoral neck density was carried out. In blood serum the activity of alkaline phosphatase, and also the level of calcium, phosphorus and osteocalcinum was defined. It was fixed, that during the application of estrogens by the women, who had their uterus with appendages removed concerning fibromyoma, the density of an osteal tissue is raised, but the BMI index did not change.

KEY WORDS: removing of an uterus with appendages, fibromyoma of an uterus, estrogens, osteoporosis.

Отримано 16.01.2002 р.

Адреса для листування: М.Г.Бульса, вул. 5 Липня, 32А/11, Щецин, Польща.

ГЛІКОЗИЛЬОВАНІСТЬ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ G В НОРМІ Й ПРИ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В ТА С

Г.С. Маслак, А.І. Шевцова, О.З. Бразалук
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

У роботі проведено порівняння глікозильованості Ig G в нормі й при вірусних гепатитах. При дослідженні вуглеводного компонента з використанням лектину сої показано підвищення сіалюваності N-гліканів Ig G при вірусних гепатитах. Частота виявлення сіалових кислот у складі вуглеводного компонента Ig G при гепатитах групи С вища, ніж при гепатитах В. Неповне зв'язування з цим лектином, навіть після відщеплення сіалових кислот, мабуть, свідчить про наявність дегалактозильованих N-гліканів у структурі Ig G при даному виді патології. Отримані результати можуть бути корисними для розробки додаткових критеріїв оцінки тяжкості захворювання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: імуноглобулін G, глікозильованість, вірусні гепатити В і С.

ВСТУП. Підвищення кількості хворих на вірусний гепатит серед населення України примушує дослідників спрямовувати свої зусилля на боротьбу з цим видом патології. Дослідження імунної системи і тих імунологічних процесів, які відбуваються в період хвороби, можуть допомогти зрозуміти механізми розвитку даного виду патології.

Більшість ключових молекул, що беруть участь в імунній відповіді, є глікопротеїнами (білки системи комплементу, імуноглобуліни, HLA-антигени, рецептори клітин та ін.). Стан вуглеводної частки цих білків може впливати на імунологічні взаємодії та відігравати важливу роль у патогенезі захворювань [7].

Багато досліджень проводиться для визначення глікозильованості імуноглобулінів, особливо Ig G. Відомо, що структура олігосахаридних ланцюгів Fc- та Fab-фрагментів Ig G змінюється при деяких захворюваннях. Наприклад, при ревматоїдному артриті, ювенільному хронічному артриті, хворобі Крона відбувається значне збільшення вмісту дегалактозильованих N-гліканів у Fc-фрагменті Ig G [6]. Що стосується глікозильованості Fab-фрагментів Ig G, то показано існування асиметричних (унівалентних) Ig G, що мають олігосахаридний ланцюг лише на одному з двох F(ab')₂ фрагментів.

© Г.С. Маслак, А.І. Шевцов – д.б.н., проф., О.З. Бразалук – д.б.н., проф., 2002.

Їх продукція підвищується в 3-7 разів при деяких хронічних та онкологічних захворюваннях [3].

Ми припустили, що імунна реакція при вірусних гепатитах супроводжується появою глікоформ Ig G, які відмінні від тих, що синтезуються в нормі. Метою роботи було порівняти структуру вуглеводного компонента Ig G в нормі й при вірусних гепатитах В та С.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували Ig G плазми крові 35 хворих на вірусні гепатити віком від 17 до 46 років: 20 із них – хворі на гепатит В (HBV-інфекція), 15 – на гепатит С (HCV-інфекція) та 15 умовно здорових осіб.

Виділення імуноглобулінів класу G із плазми здійснювали за допомогою афінної хроматографії з використанням Protein-A агарози [3]. Для елюції використовували 0,1 М гліцин-HCl буфер (pH=3,0). Фракції з найбільшою концентрацією Ig G, які виявляли за допомогою ракетного імуноелектрофорезу із застосуванням моноспецифічної антисироватки до Ig G людини, об'єднували та зберігали при температурі -20 °C в присутності 15 mM Na₃

Дослідження глікозильованості Ig G проводили за допомогою афінного блотингу зі специфічними лектинами, кон'югованими з пероксидазою хрому. Диск-електрофорез здійснювали з додаванням додецилсульфату натрію у градієнті ПААГ 5-15 %. Буфер для

зразків уміщував дитіотреїтол. Перенесення білків на нітроцелюлозну мембрану "Діацел" (0,45 та 0,21 мкм) проводили в 0,025 М тріс-гліциновому буфері (рН-8,9) в присутності 20 % етанолу впродовж 2 год при силі струму 250 мА. Частину нітроцелюлозних мембран інкубували з сироватками проти Ig G людини, міченими пероксидазою хрому. Інші – з кон'югатами лектинів, які одержували за методом [1]. Використовували лектин чечевиці (LCL), конвалії (CON A), зародків пшениці (WGA), сої (SBA). Для контролю за специфічністю зв'язування кон'югатів частину мембран інкубували з лектинами, міченими пероксидазою хрому в присутності відповідних сахарів, що блокують їх активні центри. Кольорову реакцію здійснювали в розчині 0,02 % діамінобензидину, 0,01 % H₂O₂ в 50 мМ тріс-НСІ, рН-7,4.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Методом імуноблотингу в Ig G-фракціях здорової людини виявлено поліпептиди з молекулярною масою 55,0; 90,0; 80,0 та 75,0 кД (1 на рис. 1). Зона з молекулярною масою 55 кД відповідає Fc-фрагменту Ig G, що підтверджується взаємодією цього поліпептиду з Protein A (дані не представлено) [2]. Поліпептиди з молекулярною масою 75, 80 та 90 кД відповідають різним сполученням легких та важких ланцюгів і можуть бути наслідком їх рекон'югації. Різниця в молекулярній масі може пояснюватись відмінностями вуглеводного компонента в цих глікопептидах.

Для дослідження структури гліканів Ig G використовували манозоспецифічні лектини LCL і Con A, N-ацетилглюкозамінспецифічний WGA та Gal-специфічний SBA.

Результати дослідження представлено в таблиці 1 та на рисунку 1. Перш за все треба

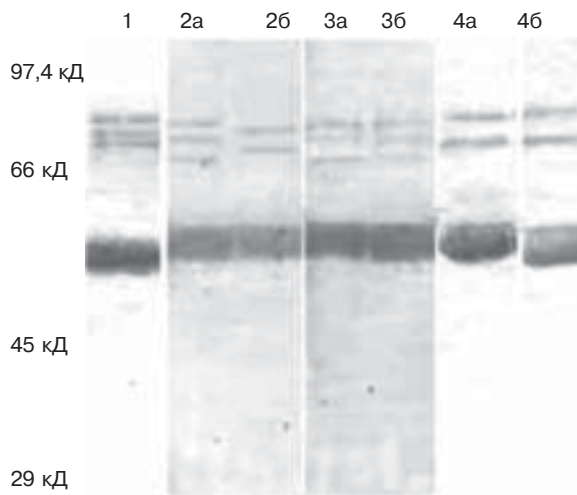


Рис. 1. Лектин-блот аналіз Ig G-фракцій з використанням:

1 – антисироватки до Ig G людини; 2 – SBA-ПО*; 3 – SBA-ПО*+H₂SO₄; 4 – LCL-ПО*.

а – норма; б – HCV-інфекція.

відзначити, що всі перелічені лектини зв'язують пептид із молекулярною масою 55 кД незалежно від стану пацієнта (табл. 1). Враховуючи специфічність лектинів і наведені вище дані, що поліпептид з молекулярною масою 55 кД є Fc-фрагментом Ig G, можна стверджувати, що структура N-глікану Fc-фрагмента імуноглобулінів G суттєво не змінюється при захворюванні на вірусний гепатит.

Інша картина має місце, якщо аналізувати зв'язування лектинів з глікопептидами, молекулярна маса яких становить 75,0, 80,0 та 90,0 кД. Так, глікопептид з молекулярною масою 75 кД проявляє високу спорідненість до манозоспецифічних лектинів LCL і CON A у всіх досліджуваних зразках, але слабше взаємодіє з WGA та SBA (табл. 1). Характерно, що SBA виявляє цю зону в зразках здорових людей як до, так і після відщеплення сіалових кислот, що свідчить про відсутність сіалювання N-гліканів даного пептиду в нормі. Слід відразу ж відзначити, що така ж сама картина отримана нами при аналізі

Таблиця 1 – Частота зв'язування Ig G фракцій з лектинами

Тип лектину	Молекулярна маса Ig G-фракції, кД			
	90,0	80,0	75,0	55,0
Лектин гороху (LCL)	100/100/26	100/100/26	100/100/100	100/100/100
Лектин конвалії (Con A)	90/90/100	40/37/52	100/100/100	100/100/100
Лектин зародків пшениці (WGA)	60/100/100	60/100/100	60/100/100	100/100/90
Лектин сої (SBA)	100/50/0	100/50/45	100/50/40	100/100/100
Лектин сої + 0,05 н H ₂ SO ₄ (SBA)	100/75/50	100/75/75	100/75/60	100/100/100

Примітка. Перша цифра – частота зв'язування (в %) в нормі; друга – при гепатитах В; третя – при гепатитах С.

за допомогою SBA і SBA+0,05 н H_2SO_4 інших глікопептидів (2а, 3а на рис. 1) і підтверджується даними Mattu et al., які показали наявність сіалових кислот менш ніж у 10 % випадків у нормі [5]. При вірусних інфекціях лектин сої зв'язується з глікопептидом з молекулярною масою 75 кД, відповідно, в 50 і 40 % випадків, а після десіалювання – в 75 і 60 %, що свідчить про часткову сіалюваність цього поліпептиду при патології. На рисунку 1 наведено приклад лектин-блоту Ig G-фракцій хворого на вірусний гепатит С із використанням SBA, в якого спочатку була відсутня зона з молекулярною масою 75 кД (2б на рис. 1), а після десіалювання вона з'являлась (3б на рис. 1).

Глікопептид із молекулярною масою 80 кД не виявлявся за допомогою LCL у жодному випадку, що може свідчити про відсутність корової фукози в складі N-гліканів як у нормі, так і при HBV- та HCV-інфекціях (4а, 4б на рис.1). Взаємодія з Conavalia ensiformis agglutinin виявляється в незначній кількості зразків незалежно від стану пацієнта та визначає наявність у цих випадках розділених 2-х антенних N-гліканів. Глікопептид із молекулярною масою 80 кД із лектином сої взаємодіє при HBV і HCV-інфекції, відповідно, в 50 і 45 % зразків, а після відщеплення сіалових кислот галактоза виявляється в 75 % випадків в обох групах гепатиту (табл. 1). Ці результати, як і при дослідженні попереднього глікопептиду, визначають часткову сіалюваність N-гліканів пептиду з молекулярною масою 80 кД.

Поліпептид із молекулярною масою 90 кД завжди зв'язувався з LCL в нормі й при гепатиті

В, але тільки в 4 із 15 зразків, взятих у хворих на HCV-інфекцію, ми ідентифікували цей глікопептид (табл. 1). Отже, частота виявлення корової фукози в складі N-гліканів пептиду з молекулярною масою 90 кД при HCV-інфекціях нижча, ніж у нормі та при HBV-інфекціях. Навпаки, CON A практично завжди виявляв цю зону незалежно від стану пацієнта (табл. 1). Лектин сої при вірусному гепатиті В спочатку зв'язав цей глікопептид лише в половині досліджуваних зразків, а після десіалювання – в 75 %. При HCV-інфекціях ця зона при безпосередній інкубації не спостерігалась у жодному випадку, а після відщеплення сіалових кислот лектин сої виявив її в половині досліджуваних зразків.

ВИСНОВОК. Виявлено відмінності в структурі N-гліканів пептидів Ig G-фракцій. Так, у глікопептидах із молекулярною масою 90 кД при HCV-інфекціях рідше, ніж в інших випадках, спостерігаються N-глікани з коровою фукозою. При дослідженні глікопептидів з молекулярною масою 75,0, 80,0 та 90,0 кД із використанням SBA виявлено різницю в їх сіалюваності. Ступінь сіалюваності вищий при вірусних гепатитах, ніж у нормі, причому вуглеводний компонент при вірусних гепатитах групи С більш сіалюваний, ніж при вірусному гепатиті В. Неповне зв'язування цих глікопептидів із SBA після відщеплення сіалових кислот, можливо, свідчить про наявність дегалактозилізованих N-гліканів в їх структурі.

Отримані результати можуть бути корисними для пошуку додаткових критеріїв при діагностиці інфекційних захворювань.

ЛІТЕРАТУРА

1. Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. Лектины в гистохимии. – Львів: Вища школа, 1989. – 114 с.
2. Маслак Г.С., Бразалук О.З., Шевцова А.І. Виявлення антигену в складі циркулюючих імунних комплексів // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2001. – № 5. – С. 21-25.
3. Шевцова А.І., Бразалук О.З., Письменецька І.Ю. та ін. Глікобіологія та імунологія: сучасне та майбутнє // Мед. хім. – 2001. – **3**, № 2. – С. 70-76.
4. Lund R. Affinity chromatography. Principles and methods // Pharm. – 1979. – **59**. – Р. 53-56.
5. Mattu T.S., Pleass R.J., Willis AC. et al. The

glycosylation and structure of the human serum IgA1, Fab and Fc regions and the role of N-glycosylation on Fc alpha receptor interactions// J. Biol. Chem. – 1998. – **270**, № 4. – Р. 2260-2272.

6. Rudd P.M., Elliot T., Cresswell P. et al. Glycosylation and the Immune System // J. Sci. – 2001. – **291**, № 4. – Р. 2370-2375.

7. Wormald MR., Rudd PM., Harvey DJ. et al. Variations in oligosaccharide-protein interactions in immunoglobulin G determine the site-specific glycosylation profiles and modulate the dynamic motion of the Fc // Biochem. – 1997. – **36**, № 6. – Р. 1370-1380.

ГЛИКОЗИЛИРОВАННОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ G В НОРМЕ И ПРИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ В И С

А.С. Маслак, А.И. Шевцова, А.З. Бразалук
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

В работе проведено сравнение гликозилированности Ig G в норме и при вирусных гепатитах. При исследовании углеводного компонента с использованием лектина сои показано повышение сиалированности N-гликанов Ig G при вирусных гепатитах. Частота выявления сиаловых кислот в составе углеводного компонента Ig G при гепатитах группы С выше, чем при гепатитах В. Неполное связывание с этим лектином, даже после отщепления сиаловых кислот, возможно, свидетельствует о наличии дегалактозилированных N-гликанов в структуре Ig G при данном виде патологии. Полученные результаты могут быть полезными для разработки дополнительных критериев оценки тяжести заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммуноглобулин G, гликозилированность, вирусные гепатиты В и С.

IMMUNOGLOBULIN G GLYCOSYLATION IN NORM AND AT VIRAL HEPATITIS B AND C

H.S. Maslak, A.I. Shevtsova, O.Z. Brazaluk
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The comparison of IgG glycosylation in norm and at viral hepatitis is presented in the work. At investigation of carbohydrate component using soya bean lectin the increase of Ig G N-glycan syalilation at viral hepatitis. The frequency of revealing of syalic acids in composition of carbogydrate component of Ig G at hepatitis C is higher than at hepatitis B. Untotal binding with that lectin, even after desyalilation might be the evidence of availability of degalactosylated N-glycans in the structure of IgG at that pathology. Obtained results can be used as additional criteria for hepatitis B and C severity evalution.

KEY WORDS: immunoglobulin G, glycosylation, viral hepatitis B and C.

Отримано 26.02.2002 р.

Адреса для листування: Г.С. Маслак, пр. Правди, 117/4, Дніпропетровськ, 49037, 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

УДК 577.115.115.3: 612.25: 612.014.482:621.039.586

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СПЕКТР ЛІПІДІВ КОНДЕНСАТУ ВИДИХНУТОГО ПОВІТРЯ В ОСІБ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ ПОМІРНИХ ДОЗ РАДІАЦІЇ ПІСЛЯ АВАРІЇ НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС**О.Б. Пікас***НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ*

Мета дослідження – вивчити та оцінити стан ліпідного комплексу конденсату видихнутого повітря (КВП) в осіб, які зазнали впливу помірних доз радіації, визначаючи жирнокислотний спектр ліпідів біохімічним методом на газорідному хроматографі. Було встановлено, що у здорових осіб насичені жирні кислоти (ЖК) забезпечують стійкість сурфактантної системи до вільнорадикальних процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Показано, що помірні дози радіації сприяють посиленню процесів ПОЛ, що проявляється достовірним збільшенням вмісту ненасичених ЖК за рахунок арахідонової ($C_{20:4}$) та лінолевої ЖК ($C_{18:2}$), і призводять до значних змін у сурфактанті легень, пригнічуючи його поверхневу активність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: жирнокислотний спектр ліпідів, сурфактант, перекисне окиснення ліпідів, конденсат видихнутого повітря, ліквідатори, радіація.

ВСТУП. Сурфактант легень – це найбільша біологічна мембрана в організмі людини з високим вмістом ненасичених жирних кислот (ЖК), де проходять вільнорадикальні процеси. При пошкодженні мембрани активізується процес ПОЛ, що є одним із патогенетичних умов виникнення захворювань органів дихання.

Важливу роль у функції дихання відіграють поверхнево-активні властивості (ПАВ) сурфактанта. Відсутність сурфактанта або його пригнічення часто пов'язані з токсичною дією продуктів запалення на альвеолярні клітини, які продукують поверхнево-активний фосфоліпідний комплекс, і при цьому склад його значно змінюється. Ступінь змін залежить від активності та поширення запалення в легенях і пов'язаний з порушенням вільнорадикальних процесів [1]. В організмі людини постійно проходять реакції вільнорадикального окиснення, які беруть участь у фізіологічних та патологічних процесах [3].

Субстратом для вільнорадикальних реакцій є біомолекулярний шар фосфоліпідів мембран [2]. Порушення структури мембран внаслідок окиснення її ліпідного компонента є причиною розвитку патологічного процесу в клітинах, тканинах та організмі [2, 3].

© О.Б. Пікас – к.м.н., 2002.

Оскільки в основі запальних процесів організму лежить деструкція клітинних мембран, а поліненасичені жирні кислоти (ПН ЖК) ліпідів є основним субстратом процесу ПОЛ, то зміни їх інформативні в плані оцінки властивостей сурфактанта легень (СЛ) у конденсаті видихнутого повітря (КВП) та діагностики патологічних процесів в органах дихання.

На сьогодні дослідження КВП є одним із перспективних методів вивчення СЛ, а жирнокислотний спектр ліпідів у ньому дає можливість оцінити інтенсивність процесів ПОЛ у сурфактанті та провести своєчасну корекцію його у процесі лікування. Найчутливішими до процесів ПОЛ є ПН ЖК ліпідів, серед яких – лінолева ($C_{18:2}$) та арахідонова ЖК ($C_{20:4}$).

Метою дослідження було вивчити та оцінити стан ліпідного комплексу КВП в осіб, які зазнали впливу помірних доз радіації.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами було обстежено 84 здорові особи, які не курили і не брали участі у ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС (ЧАЕС) (перша група, контрольна), та 38 осіб такого ж віку, які брали участь у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС менше 10 днів або проживали на території з підвищеним радіаційним фоном (друга група).

Обстеження осіб проводили в міжрайонному протитуберкульозному диспансері № 1 та Республіканському спеціалізованому диспансері радіаційного захисту населення, де перебували ліквідатори на амбулаторному обстеженні.

КВП збирали за допомогою спеціальної скляної трубки – конденсатора, попередньо знежиреної у хромовій суміші, добре промитої дистильованою водою і просушеної в сухожаровій шафі згідно з інформаційним листом О.Б. Пікаса і Р.Г. Процюка [4]. Трубка містилась у посудині, заповненій холодною водою, в яку додавали грудки льоду та харчову сіль (100 г на 1 л води); температура охолоджувальної рідини становила 0 °С. При даній температурі у скляній трубці конденсується приблизно 80-93 % парів видихнутого повітря; волога, яка осідала на стінки трубки, стікала у прийомну колбу, після чого конденсат виливали в чисту знежирену склянку.

Визначення жирнокислотного складу фосфоліпідів у КВП проводили біохімічним методом, в основі якого лежать екстракція ліпідів із КВП, виділення фосфоліпідів, метилювання і газохроматографічний аналіз жирних кислот на газорідному хроматографі серії "Цвет-500" із плазмоіонізаційним детектором в ізотермічному режимі. Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів здійснювали за методом нормування площі і визначення частки ЖК у відсотках. Похибка визначення показників складала ± 10 % [5, 6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У КВП було ідентифіковано 5 ЖК, із яких насичені – пальмітинова ($C_{16:0}$) і стеаринова ($C_{18:0}$), ненасичені – олеїнова ($C_{18:1}$), лінолева ($C_{18:2}$), арахідонова ($C_{20:4}$).

У першій групі (контрольній) жирнокислотний спектр ліпідів КВП характеризувався великою кількістю насичених ЖК: пальмітинової ЖК ($C_{16:0}$) – $(52,30 \pm 1,40)$ %, стеаринової ЖК ($C_{18:0}$) – $(19,30 \pm 1,00)$ %. Серед ненасичених ЖК було виявлено у значній кількості олеїнову ЖК ($C_{18:1}$) – $(20,67 \pm 1,30)$ %, а сума ПН ЖК

становила $(7,73 \pm 1,09)$ %. Таким чином, нами встановлено, що в здорових осіб сурфактант легень характеризується великою кількістю насичених ЖК – $(71,60 \pm 1,47)$ %, особливо пальмітинової ($C_{16:0}$), що, можливо, забезпечує стійкість сурфактантної системи до вільнорадикальних процесів ПОЛ.

В осіб другої групи спостерігалось достовірне зменшення суми насичених ЖК до $((54,60 \pm 1,70)$ %), порівняно із групою контролю, причому в основному за рахунок пальмітинової ЖК ($C_{16:0}$) $((37,10 \pm 1,6)$ %). Сума ненасичених ЖК достовірно збільшувалась до $((45,40 \pm 1,70)$ %), порівняно із групою контролю $((28,40 \pm 1,50)$ %, за рахунок високого рівня арахідонової ($C_{20:4}$) $((5,80 \pm 1,16)$ %) та лінолевої ЖК ($C_{18:2}$) $((11,50 \pm 1,03)$ %) (в групі контролю вміст даних ЖК становив відповідно $((2,78 \pm 0,69)$ %) і $((1,29 \pm 0,81)$ %)). Серед жирнокислотного спектра ліпідів КВП в осіб другої групи спостерігались лише сліди лінолевої ($C_{18:3}$) та ейкозотрієнової ЖК ($C_{20:3}$), а в групі контролю їх вміст становив відповідно $((0,50 \pm 0,13)$ %) і $((1,12 \pm 0,54)$ %).

ВИСНОВКИ. 1. Радіаційне опромінення навіть у дуже малих дозах викликає зміни жирнокислотного спектра ліпідів КВП, що може бути однією із причин виникнення, розвитку чи загострення захворювань органів дихання.

2. Вивчення спектра ЖК ліпідів у КВП дає можливість оцінювати інтенсивність процесів ПОЛ у сурфактанті легень, проводити своєчасну корекцію їх в процесі лікування, виявляти осіб із захворюваннями органів дихання та обґрунтовувати терапевтичні підходи у їхньому лікуванні.

3. Помірні дози радіації сприяють посиленню процесів ПОЛ, що приводить до значних змін у сурфактанті легень й пригнічує його поверхневу активність. Тому, особи, які знаходились під впливом радіаційного опромінення чи проживали на території з підвищеним радіаційним фоном, потребують диспансерного нагляду та профілактики захворювань органів дихання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биркун А.А., Нестеров Е.Н. Кобозев Г.В. Сурфактант лёгких. – К.: Здоров'я, 1981. – 160 с.
2. Владимиров Ю.А. Роль нарушенной свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1989. – № 4. – С. 7-19.

3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в живых системах // Биофиз. – 1991. – 29. – 249 с.
4. Пікас О.Б., Процюк Р.Г. Спосіб вивчення вологовидільної функції легень // Інформаційний лист. – 2000. – 2 с.
5. Рыбакова Е.В., Сидельников В.М., Брюзги-

на Т.С., Кравченко Э.Я. Способ газохроматографического определения липидов в конденсате выдыхаемого воздуха // Информационное письмо. – 1991. – 2 с.

6. Рыбакова Е.В., Сидельников В.М., Брюзгина Т.С., Кравченко Э.Я. Спектр жирных кислот и уровень свободного холестерина в КВВ // Лаб. дело. – 1991. – № 4. – С. 74-75.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СПЕКТР ЛИПИДОВ КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА У ЛИЦ, КОТОРЫЕ ПОДВЕРГЛИСЬ ВЛИЯНИЮ УМЕРЕННЫХ ДОЗ РАДИАЦИИ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

О.Б. Пикас

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

Резюме

Цель исследования – изучить и оценить состояние липидного комплекса конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) у лиц, которые подверглись влиянию умеренных доз радиации, определяя жирнокислотный спектр липидов биохимическим методом на газожидкостном хроматографе. Было установлено, что у здоровых лиц насыщенные жирные кислоты (ЖК) обеспечивают стойкость сурфактантной системы к свободнорадикальным процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ). Показано, что умеренные дозы радиации способствуют усилению процессов ПОЛ, что проявляется достоверным увеличением содержания ненасыщенных ЖК за счет арахидоновой ЖК ($C_{20:4}$) и линолевой ($C_{18:2}$), и приводят к значительным изменениям в сурфактанте легких, угнетая его поверхностную активность.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: жирнокислотный спектр липидов, сурфактант, перекисное окисление липидов, конденсат выдыхаемого воздуха, ликвидаторы, радиация.

FATTY-ACID LIPID SPECTRUM OF THE EXPIRED AIR CONDENSATE IN THE INDIVIDUAL WHO WERE UNDERGONE THE EFFECT OF MODERATE RADIATION DOSES FOLLOWING THE CHORNOBYL NPP ACCIDENT

O.B. Pikas

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETZ, KYIV

Summary

The work was aimed at studying the lipid complex state of the expired air condensate in the individuals exposed to moderate radiation doses. Fatty-acid spectrum of the lipids was determined by the biochemical method using a gas-liquid chromatograph. We established that, in healthy people, saturated fatty acids (FA) ensured the surfactant system resists to free-radical processes of lipid peroxidation (LPO). It was substantiated that moderate radiation doses induced the augmentation of LPO processes, which was manifested by increases in nonsaturated fat acid at the expense of arachidonic FA ($C_{20:4}$) and linoleic FA ($C_{18:2}$), and resulted in significant changes in pulmonary surfactant towards inhibition of its surface activity.

KEY WORDS: fatty-acid lipid spectrum, surfactant, lipid peroxidation, expired air condensate, liquidators, radiation.

Отримано 18.03.2002 р.

Адреса для листування: О.Б. Пикас, кафедра фтизіатрії з курсом пульмонології, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, бульв. Тараса Шевченка, 13, Київ, 01004, Україна.

ВПЛИВ СОЛЯНОКИСЛОГО ГІДРАЗИНУ НА ЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ В ІЗОЛЬОВАНИХ ГЕПАТОЦИТАХ

І.М. Кліщ, М.М. Корда, О.М. Олещук

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У модельному експерименті з використанням ізольованих гепатоцитів (інтактних та інкубованих із солянокислим гідразинном) досліджували швидкість поглинання кисню в різних метаболічних станах та концентрацію аденілових нуклеотидів. Показано, що інкубація із солянокислим гідразинном супроводжується пригніченням окиснення сукцинату, зниженням швидкості транспорту електронів по дихальному ланцюгу, зменшенням спорідненості дихання та окисного фосфорилування. Встановлено також зниження концентрації аденілових нуклеотидів та порушення їх співвідношення. Зроблено висновок про роль порушень енергетичного стану гепатоцитів у реалізації гепатотоксичної дії солянокислого гідразину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ізольовані гепатоцити, енергетичні процеси, солянокислий гідразин.

ВСТУП. Порушення процесів енергозабезпечення відіграє важливу, а іноді й вирішальну роль у механізмах дії багатьох біоцидних ксенобіотиків [2]. Одним із токсичних агентів, який викликає класичну картину жирового гепатозу, є гідразин. Механізм його гепатотоксичної дії до кінця не досліджено. Відзначають вплив гідразину на активність процесів ліпоперекиснення, активність деяких ферментів ліпідного обміну, функціональну активність мікосом [1, 4, 10]. Вказують також на пригнічення даним агентом функціональної активності мітохондрій печінки [10].

На сьогодні існує багато робіт, в яких описано дослідження енергетичних процесів в ізольованих мітохондріях [2, 6]. Разом із тим, дослідження метаболічного стану мітохондрій безпосередньо в клітинах проводять значно рідше, що пов'язано з рядом труднощів у процесі виділення гепатоцитів [7]. Метою нашого дослідження було вивчення впливу солянокислого гідразину на функціональну активність мітохондрій та стан енергетичних процесів у складі гепатоцитів щурів, виділених неферментативним методом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ізольовані гепатоцити виділяли за методом [5]. Життєздатність отриманих клітин оцінювали за їх здатністю забарвлюватися вітальним барвником трипановим синім. Працювали із суспензіями,

© І.М. Кліщ – к.м.н., М.М. Корда – д.м.н., проф., О.М. Олещук – к.м.н., 2002.

ступінь забарвленості клітин в яких не перевищував 25 % [9]. Дихальну активність ізольованих гепатоцитів визначали полярографічним методом за допомогою відкритого платинового електрода на полярографі "РА-2" [3]. Кількість клітин у кюветі полярографа об'ємом 1 мл становила $2 \cdot 10^6$. Склад інкубаційного середовища: 0,5 % гідролізат лактальбуміну в розчині Хенкса (рН = 7,4). Стимулювали дихання добавками АДФ (150 мкМ) та 2,4-динітрофенолу (2,4-ДНФ) (50 мкМ). Швидкість дихання розраховували на 1 млн клітин і виражали на 1 хв часу [7].

Досліджували також динаміку змін вмісту АТФ, АДФ і АМФ в ізольованих гепатоцитах за умов їх інкубації в середовищі з 0,5 % гідролізатом лактальбуміну протягом 1 год при температурі 37 °С у присутності (1 мг/мл) або без солянокислого гідразину. Вміст АТФ, АДФ і АМФ визначали за допомогою стандартних тестів фірми "Boehringer Mannheim" (Німеччина).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Графіки, що відображають дихальну активність ізольованих клітин печінки, представлено на рисунку 1.

Як видно з наведених результатів, швидкість поглинання O_2 інтактними гепатоцитами в присутності 8 мМ сукцинату становила 35,2 нг-ат. O_2 за 1 хв на 10^6 клітин, тоді як гепатоцитами, обробленими гепатотоксином, – 22,9 нг-ат. $O_2/10^6$ клітин за 1 хв. Додавання в кювету полярографа субстрату окисного фосфорилування – АДФ або роз'єднувача

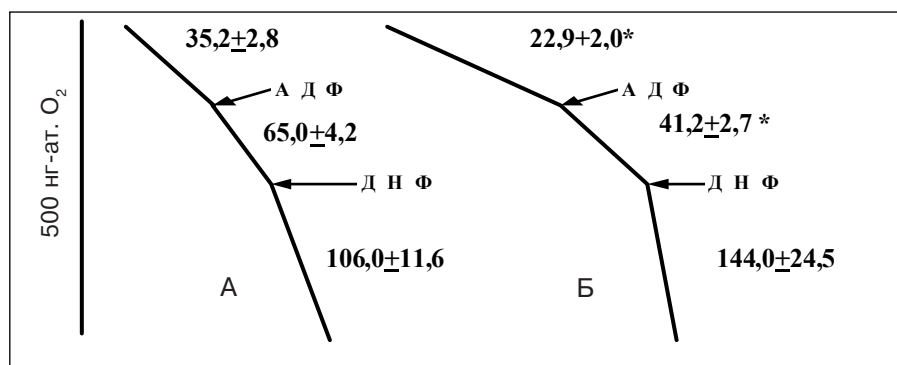


Рис. 1. Дихальна активність інтактних (А) і оброблених солянокислим гідразиним (Б) ізолюваних гепатоцитів щурів. Швидкість дихання виражена в нг $O_2/10^6$ клітин за 1 хв. Наведено результати одного досліду, характерного для серії з 6 експериментів. Субстрат дихання – сукцинат (8 мМ). Стрілками показано момент введення у середовище АДФ і 2,4-ДНФ. * – зміни достовірні відносно показників швидкості поглинання кисню інтактними гепатоцитами.

дихання й окисного фосфорилування – 2,4-ДНФ призводило до збільшення швидкості поглинання кисню інтактними гепатоцитами відповідно до 65,8 і 106,0 нг-ат. $O_2/10^6$ клітин за 1 хв, тоді як АДФ, доданий до гепатоцитів, що інкубувались з солянокислим гідразиним, спричинив до зростання їх дихальної активності лише до 41,2 нг-ат. $O_2/10^6$ клітин за 1 хв.

На рисунку 2 представлено графіки, що відображають вплив гідразину на вміст АТФ, АДФ і АМФ в ізолюваних гепатоцитах за умови їх інкубації протягом 1 год. У процесі інкубації суспензії гепатоцитів відбувається зменшення вмісту АТФ у клітинах (через 1 год інкубації концентрація макроерга у системі знизилась на 31 % відносно вихідного рівня). Присутність в інкубаційному середовищі солянокислого гідразину викликала більш різке зниження концентрації АТФ. За цих умов протягом 1 год інкубації зменшення становило 77 %. Звертає на себе увагу паралельне із зниженням вмісту АТФ підвищення концентрації АДФ і АМФ у пробах. Збільшення пулу АДФ і АМФ, найімовірніше, є наслідком розпаду АТФ. Причому не відмічено відповідності між ступенем

зменшення кількості АТФ в інкубаційному середовищі і зростанням вмісту АДФ та АМФ. На наш погляд, це пов'язано із задіянням механізмів, що забезпечують втримання у допустимих межах основного параметра функціонування гепатоцита – енергетичного заряду. До таких механізмів, відносять, зокрема аденілаткіназний шлях ресинтезу АТФ з АДФ, а також дезаміназний шлях розпаду АМФ до ІМФ [6, 8]. Це дозволяє втримати енергетичний заряд на критичному рівні, що є необхідною умовою функціонування клітини.

ВИСНОВКИ. 1. Солянокислий гідразин пригнічує процеси енергозабезпечувального окиснення в гепатоцитах: інгібується активність ферментів окиснення субстратів тканинного дихання, гальмується транспорт електронів по дихальному ланцюгу, зменшується спорідненість тканинного дихання і окисного фосфорилування.

2. Інкубація гепатоцитів із солянокислим гідразиним супроводжується зниженням у них сумарного вмісту макроергічних сполук та порушенням їх співвідношення.

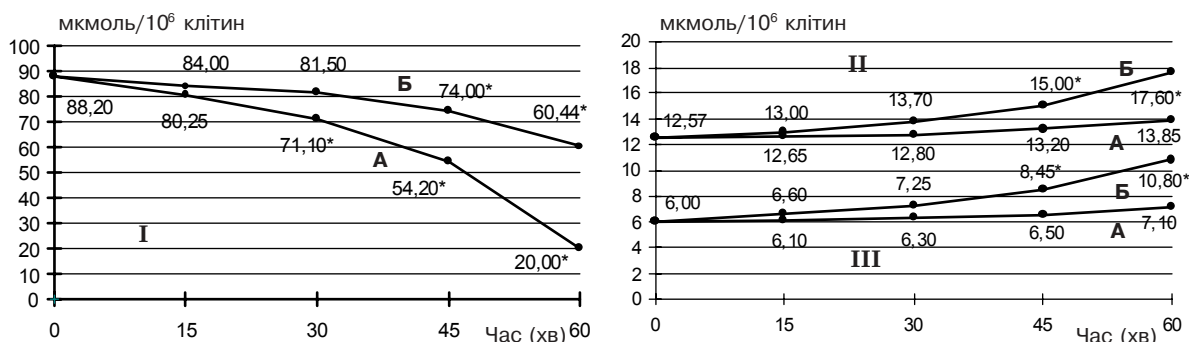


Рис. 2. Динаміка вмісту АТФ (I), АДФ (II) і АМФ (III) в інкубаційному середовищі з ізолюваними гепатоцитами в присутності (А) і без (Б) солянокислого гідразину.

Примітки.

1. Кожне значення, представлене на графіках, є середнім арифметичним з чотирьох визначень.
2. * – зміни достовірні відносно показників до інкубації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авакян А.Х. Новые молекулярные критерии оценки токсического действия производных гидразина. Активные формы кислорода как ключевые агенты в механизме токсичности // Фармакол. и токсикол. – 1990. – **53**, № 1. – С. 70-73.
2. Губский Ю.И. Коррекция химических поражений печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.
3. Кондрашова М.Н., Мохова Е.Н., Роттенберг Ю.С. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Под ред. Г.М. Франка. – М.: Наука, 1973. – 221 с.
4. Копылова Т.Н., Майоре А.Я., Эрлете Д.Л. и др. Перекисное окисление липидов при поражении печени солянокислым гидразином // В кн.: Клеточная и субклеточная патология печени. – Рига: Зинатне, 1982. – С. 35-45.
5. Кравченко Л.П., Андриенко А.Н., Петренко А.Ю., Сукач А.Н. Неферментативный метод получения изолированных гепатоцитов: оценка их морфофункциональной активности // Укр. биохим. журн. – 1989. – № 4. – С. 112-116.
6. Литошенко А.Я. Возрастные особенности содержания аденозинтрифосфатов в регенерирующей печени крыс // Укр. биохим. журн. – 1981. – **53**, № 6. – С. 11-113.
7. Петренко А.Ю. Дыхательная активность изолированных гепатоцитов // Укр. биохим. журн. – 1991. – № 4. – С. 114-118.
8. Atkinson D.E. The energy charge of adenilate pool as a regulatory parameters // Biochem. – 1968. – **2**, № 11. – P. 4030-4034.
9. Freshney R. Culture of animal cells. – New York: Alan R. Liss, Inc., 1987. – 350 p.
10. Timbrel J.A., Scales M.D., Streeter A.J. Studies of hydrazine hepatotoxicity. II. Biochemical findings // J. Toxicol. Environ. Health. – 1981. – **10**. – P. 955-968.

ВЛИЯНИЕ СОЛЯНОКИСЛОГО ГИДРАЗИНА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ИЗОЛИРОВАННЫХ ГЕПАТОЦИТАХ

И.Н. Клищ, М.М. Корда, О.М. Олещук

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В модельном эксперименте с использованием изолированных гепатоцитов (интактных и инкубированных с солянокислым гидразином) исследовали скорость поглощения кислорода в различных метаболических состояниях и концентрацию адениловых нуклеотидов. Показано, что инкубация с солянокислым гидразином сопровождается угнетением окисления сукцината, снижением скорости транспорта электронов по дыхательной цепи, уменьшением сопряженности дыхания и окислительного фосфорилирования. Установлено также снижение концентрации адениловых нуклеотидов и нарушение их соотношения. Сделан вывод о роли нарушений энергетического состояния гепатоцитов в реализации гепатотоксического действия солянокислого гидразина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: изолированные гепатоциты, энергетические процессы, солянокислый гидразин.

INFLUENCE OF HYDRAZINE HYDROCHLORIDE ON ENERGETIC PROCESSES IN ISOLATED HEPATOCYTES

I.M. Klishch, M.M. Korda, O.M. Oleshchuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

In the model experiment with the use of isolated hepatocytes (intact and incubated with hydrazine hydrochloride), was explored speed of oxygenium saturation in various metabolic states and concentration of adenylic nucleotides. It is shown, that the incubation with hydrazine hydrochloride is accompanied by an oppression of uptake of a succinate, reducing of rate of transport of electrons through the respiratory chain, decrease of connection of respiration and oxidizing phosphorylation. It is also fixed reducing of concentration of adenylic nucleotides and infringement of their relation. The deduction about a role of infringements of an energetic state of hepatocytes in embodying of hydrazine hydrochloride hepatotoxic activity is made.

KEY WORDS: isolated hepatocytes, energetic processes, hydrazine hydrochloride.

Отримано 05.06.2002 р.

Адреса для листування: І.М. Клищ, кафедра фармакології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, тернопіль, 46001, Україна.

ПАРАМЕТРИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЖІНОК КЛІМАКТЕРИЧНОГО ПЕРІОДУ, ХВОРИХ НА ПОПЕРЕКОВИЙ ОСТЕОХОНДРОЗ

П.М. Жук, І.М. Стельмах

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, ВІННИЦЯ

Обстежено 91 жінку клімактеричного періоду з типовим перебігом поперекового остеохондрозу. Визначено параметри ендogenousної інтоксикації організму у розпал хвороби. Встановлено, що у жінок клімактеричного періоду, хворих на поперековий остеохондроз, у розпал хвороби має місце надмірне накопичення ендотоксинів як в сироватці крові, так і в позасудинній рідині. Метаболічна дизадаптація, притаманна цим жінкам, супроводжується зниженням антитоксичної резистентності клітин крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **ендогенна інтоксикація, поперековий остеохондроз, клімакс.**

ВСТУП. Поперековий остеохондроз (ПОХ) вважають одним з найпоширеніших захворювань хребта, яке є причиною інвалідизації, соціальної дизадаптації, зниження продуктивності праці у віці високої громадської активності [3]. Особливо гостро питання профілактики і лікування ПОХ стоять у жінок клімактеричного періоду, адже у них патологічні прояви хвороби нашаровуються на закономірні вікові зміни в жіночому організмі. Останнім часом це питання набуло особливої актуальності у зв'язку з тим, що пройшли значні зміни у віковій структурі населення. Передбачають, що до 2050 р. 46 % жіночого населення планети складуть жінки клімактеричного періоду. Вже на сьогодні в Україні більше третини жінок – це жінки перехідного та похилого віку [2].

При ПОХ у жінок клімактеричного періоду механічне подразнення закінчень синовертебрального нерва і механічна компресія елементів спинного мозку, дисциркуляторні розлади, хімічний вплив продуктів неповної деполімеризації протеогліканів пульпозного ядра на рецептори нервів і судин, ефекти автоімунної запальної реакції на контакт антигенів пульпозного ядра і продуктів деструкції інших елементів диска з імунокомпетентною системою генерують розлади метаболізму, які загалом відповідають концепції ендogenousної інтоксикації (ЕІ) [1]. Проте досліджень дисметаболических проявів ПОХ у жінок клімактеричного періоду практично не проводилося. Відтак, для

спростування або підтвердження гіпотези про розлади гомеостазу у таких хворих нами визначено параметри ЕІ організму у розпал хвороби.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Відповідно до поставленої мети обстежено 91 жінку клімактеричного періоду з типовим перебігом ПОХ.

Усіх хворих було обстежено за допомогою загальноприйнятих терапевтичних, неврологічних, ортопедичних методів об'єктивного та спеціального досліджень, а також з використанням стандартних та спеціальних лабораторних обстежень.

Комплекс лабораторних досліджень, окрім загальноприйнятих, включав визначення рівня ЕІ.

Складовими синдрому ЕІ є дві найсуттєвіші патогенетичні ланки: ендотоксемія – вміст і розповсюдження в циркулюючій крові токсичних агентів у тій чи іншій концентрації та ендотоксикоз – закономірний несприятливий вислід впливу зазначених чинників на органи і системи всього організму [1]. На підставі цього для визначення рівня ЕІ використовували діагностичні тестові реакції, спрямовані на виявлення рівня як ендотоксемії (сперматозоїдний тест (СТ), концентрацію середньомолекулярних пептидів (СМП)), так і ендотоксикозу (сумарну токсичність крові та інтерстиціальної рідини (СТК), антитоксичну резистентність еритроцитів (АРЕ) та лейкоцитів (АРЛ), лейкоцитарний (ЛПІ) та гематологічний показники інтоксикації (ГПІ)). Такий методо-

логічний підхід дозволив об'єктивізувати глибину ураження тканин, органів і систем, спричиненого агресією токсичних метаболітів. Допустимі параметри показників ендогенної інтоксикації визначено у 32 здорових жінок клімактеричного періоду.

Отримані дані оброблено методом варіаційної статистики шляхом вичислення середньої арифметичної (M) та її середньої похибки (m) з урахуванням кількості спостережень. Оцінку достовірності здійснювали за допомогою критерію Стьюдента за показником P – довірчого інтервалу для математичного сподівання сукупності.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як і можна було прогнозувати, максимальне вираження ознак ЕІ спостерігалось у розпал хвороби, коли констатували виражену метаболічну дизадаптацію (табл. 1).

Особливо рельєфно це проявлялося при дослідженні токсичності крові біологічним способом (за СТ). У розпал хвороби у жінок клімактеричного періоду хворих на ПОХ, токсичність крові складала $9,54 \pm 1,59$, що в 6 разів більше допустимих параметрів ($p < 0,05$).

Одночасно про надмірну ендотоксемию в цієї категорії хворих свідчили високі значення концентрації СМП. Відмічено зростання обох фракцій (рівень СМП₁ більший на 67,14 %, а СМП₂ – на 92,12 %, порівняно з нормою).

Разом із тим, у обстежених пацієнток виявлено виражені ознаки ендотоксикозу. АРЕ становила $0,693 \pm 0,048$, АРЛ – $21,64 \pm 0,11$, що переконливо більше прийнятих за норму параметрів ($p < 0,05$). У 69,23 % хворих АРЕ була дуже низькою (ендотоксикоз – III), у 15,38 % відповідала середньому рівню резистентності (ендотоксикоз – II), АРЛ – у 65,93 та 16,48 % відповідно.

Практичну зацікавленість становило вираження тестів реактивності та інтоксикації, що характеризують зміни показників периферичної крові. У практичній медицині традиційним є дослідження ЛПІ. Останнім часом з'явилися повідомлення про доцільність ви-

значення ГПІ, який, окрім параметрів показників лейкоформули, враховує зміни ШОЕ та лейкоцитозу [1].

Наші дослідження показали коливання ЛПІ від 1,6 до 6,4, що в середньому складало $3,29 \pm 1,05$, що в 3,57 раза більше нормальних значень ($p < 0,05$).

Високий ЛПІ був зумовлений зменшенням кількості еозинофілів, майже до анеозинофілії, і зниженням лімфоцитарних показників на фоні достатньо високої чисельності нейтрофілів.

У свою чергу, ГПІ в обстежених пацієнток був у 3,56 раза більшим від аналогічного у здорових осіб ($p < 0,05$).

В жінок з ПОХ спостерігається також надмірне накопичення ендотоксинів в інтерстиціальній рідині. Наші підрахунки показали зростання рівня СТК у 6,65 раза ($p < 0,05$) стосовно допустимих параметрів.

Правомірним коментарем стосовно висвітлених вище даних є висновок про те, що у хворих на ПОХ у розпал недуги має місце надмірне накопичення ендотоксинів як в сироватці крові, так і в позасудинній рідині. Тому викликало зацікавлення уточнення ступеня зростання кожного з наведених показників.

Відношення СТК до значення токсемії в обстежених хворих жінок складало $1,27 \pm 0,04$, у здорових осіб – $1,15 \pm 0,02$ ($p < 0,05$). Відповідно, можна стверджувати, що основна маса ендотоксинів у хворих на ПОХ жінок клімактеричного періоду локалізується в інтерстиціальному просторі.

Отже, тривалий перебіг ОХ у пацієнток клімактеричного періоду супроводжується метаболічною дизадаптацією, проявом якої є зниження антитоксичної резистентності клітин крові.

ВИСНОВКИ. 1. У жінок клімактеричного періоду, хворих на ПОХ, у розпал недуги має місце надмірне накопичення ендотоксинів як в сироватці крові, так і в позасудинній рідині.

2. Метаболічна дизадаптація, притаманна жінкам клімактеричного періоду, хворим на ПОХ, супроводжується зниженням антитоксичної резистентності клітин крові.

Таблиця 1 – Параметри ЕІ в жінок клімактеричного періоду, хворих на ПОХ ($M \pm m$)

Показники ЕІ	Жінки, хворі на ПОХ (n=91)	Здорові жінки (n=32)
СТ, %	$9,54 \pm 1,59$	$1,58 \pm 0,09$
СМП ₁ , ум. од.	$0,580 \pm 0,038$	$0,347 \pm 0,039$
СМП ₂ , ум. од.	$0,488 \pm 0,025$	$0,254 \pm 0,017$
АРЕ	$0,693 \pm 0,048$	$1,82 \pm 0,15$
АРЛ	$21,64 \pm 0,11$	$0,953 \pm 0,018$
ЛПІ	$3,29 \pm 1,05$	$11,80 \pm 1,24$
ГПІ	$4,42 \pm 1,24$	$0,92 \pm 0,22$
СТК	$12,11 \pm 0,68$	$1,24 \pm 0,16$

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин М.А., Бех М.Д., Дем'яненко В.В. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму // Методичні рекомендації. – Київ, 1998. – 31 с.
2. Поворознюк В.В., Татарчук Т.Ф., Брорис О.М., Регада С.І. Постменопаузальний остеопороз: регіональні та вікові особливості // ПАГ. – 1997. – № 3. – С. 86-89.
3. Хабиров Ф.А. Клиническая неврология позвоночника. – Казань, 2002. – 469 с

ПАРАМЕТРЫ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ЖЕНЩИН КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО ПЕРИОДА, БОЛЬНЫХ ПОЯСНИЧНЫМ ОСТЕОХОНДРОЗОМ

П.М. Жук, И.Н. Стельмах

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА, ВИННИЦА

Резюме

Обследовано 91 женщину климактерического периода с типичным течением поясничного остеохондроза. Определено параметры эндогенной интоксикации организма в разгар заболевания. Установлено, что у женщин климактерического периода, больных поясничным остеохондрозом, в разгар заболевания имеет место избыточное накопление эндотоксинов как в сыворотке крови, так и во внесосудистой жидкости. Метаболическая дисадаптация, присущая этим женщинам, сопровождается снижением антитоксической резистентности клеток крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **эндогенная интоксикация, поясничный остеохондроз, климакс.**

PARAMETERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN CLIMACTERIC-AGED WOMEN WITH LUMBAR OSTEOCHONDROSIS

P.M. Zhuk, I.M. Stelmakh

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PIROHOV, VINNYTSIA

Summary

There were investigated 91 climacteric-aged women with typical current of lumbar osteochondrosis. Parameters of endogenous intoxication of the organism were determined during the disease's pear. Hyperaccumulation of endotoxins was established to occur bath in the blood serum and extravascular fluid in climacteric-aged women with lumbar osteochondrosis during the disease's pear. Metabolic dysadaptation, inherent to there women, is accompanied by decrease of antitoxic resistance of blood cells.

KEY WORD: **endogenous intoxication, lumbar osteochondrosis, climax.**

Отримано 10.06.2002 р.

Адреса для листування: П.М. Жук, кафедра акушерства і гінекології № 1, Національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Хмельницьке шосе, 98, Вінниця, 21021, Україна.

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ КАЛІЄВИХ СОЛЕЙ 3,5-ДИНІТРО- ТА 5-БРОМ-СУЛЬФАМОІЛ-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

С.Г. Ісаєв, Н.П. Кобзар, О.І. Павлій, О.М. Свечнікова
НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Здійснено синтез нових калієвих солей 3,5-динітро- та 5-бром-3-сульфамойл-N-фенілантранілових кислот, вивчено їх фізико-хімічні властивості. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ІЧ-спектрів. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. Встановлено, що синтезовані речовини проявляють протизапальну, анальгетичну, діуретичну, бактеріостатичну активність. Введення іона калію в структуру N-фенілантранілових кислот призводить як до підвищення активності, так і до зниження гострої токсичності на 25-40 %.

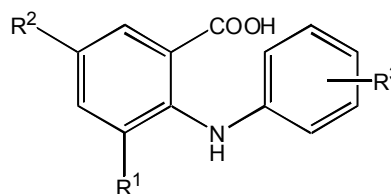
КЛЮЧОВІ СЛОВА: N-фенілантранілові кислоти, калієві солі, фармакологічна активність.

ВСТУП. Проведені раніше дослідження [2, 3] свідчать про різнобічну біологічну активність похідних N-фенілантранілових кислот. Проте поряд із позитивними якостями ароматичні кислоти мають істотні недоліки. Це побічна дія на організм: ульцерогенна, нефро-, гемато-, кардіотоксична. Крім того, N-фенілантранілові кислоти практично нерозчинні у воді, а, як відомо, ефективність біологічно активних речовин визначається не тільки мірою фармакологічної дії, а й рівнем біодоступності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Калієві солі 3,5-динітро-, 5-бром-3-сульфамойл-N-фенілантранілових кислот синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії Національної фармацевтичної академії України шляхом взаємодії відповідних кислот з карбонатом калію в середовищі етанолу при нагріванні [4].

Будову та чистоту неописаних у літературі сполук (I-IX) підтверджено даними елементного аналізу (автоматичний аналізатор М-185 фірми "Hewlett Packard"), ІЧ-спектроскопії (спектрофотометр "Specord M-80") та методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol UV-254".

Для виявлення протизапальної активності калієвих солей N-фенілантранілових кислот досліджували їх здатність пригнічувати розвиток набряку при гострому запаленні, викликаному субплантарним введенням 1 % розчину карагеніну в лапку миші [6]. Досліджувані сполуки вводили перорально у вигляді суспен-



- I – R¹=R²=NO₂, R³=2'-OCH₃;
- II – R¹=R²=NO₂, R³=3'-OCH₃;
- III – R¹=R²=NO₂, R³=4'-OCH₃;
- IV – R¹=R²=NO₂, R³=2'-Br;
- V – R¹=R²=NO₂, R³=3'-Br;
- VI – R¹=R²=NO, R³=4'-Br;
- VII – R¹=SO₂NHCH₃, R²=Br, R³=2'-CH₃;
- VIII – R¹=SO₂NHCH₃, R²=Br, R³=3'-CH₃;
- IX – R¹=SO₂NHCH₃, R²=Br, R³=4'-CH₃;
- XI – SO₂NCH₃, R²=Br, R³=2'-OCH₃.

зії, стабілізованої емульгатором твіном-80 у дозі 20 мг/кг маси тіла тварини.

Анальгетичну дію вивчали на білих щурах [1]. Показником анальгезивної дії був час (с), протягом якого тварини витримували тепловий опік шкіри хвоста, викликаний електричною лампою при температурі 100 °С. Зазначений час рееструвався автоматично. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково в дозі 20 мг/кг. Як еталон порівняння використовували анальгін.

Діуретичну дію кожної речовини досліджували за методом Є. Б. Берхіна на 7 білих щурах. Контрольні тварини одержували водне навантаження (1 мл на 20 г маси). Дослідним щурам за 30 хв до водного навантаження вводили внутрішньочеревно досліджувані сполуки в дозі 50 мг/кг у вигляді 5 % водної

суспензії. Вивчали діуретичну активність порівняно з гіпотіазидом.

Дослідження протимікробної активності проводили за загальноприйнятою методикою серійних розведень у рідкому поживному середовищі відносно грамнегативних і грампозитивних мікроорганізмів [5]. Як поживне середовище був використаний водний розчин амінопептиду (рН=7,2). Вивчали бактеріостатичну дію порівняно з етакридину лактатом.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Фармакологічний скринінг на протизапальну та анальгетичну активність у дозі 20 мг/кг виявив сполуки з антиексудативним ефектом на рівні вольтарену (II, V) або на рівні мефенамової кислоти (X). Речовини II, V, X проявляють як протизапальний, так і анальгетичний ефекти. Протизапальна активність N-фенілантранілових

кислот та їх похідних перебуває в тісному зв'язку з будовою, за антиексудативною дією вони розташовуються в ряд: D-глюкозиламонієві солі N-фенілантранілових кислот>глюкозаміди кислот>калієві солі кислот=кислоти=їх металокомплекси>їх метилові ефіри.

Аналізуючи дані таблиці 1, можна зробити висновок, що калієві солі N-фенілантранілових кислот (II, III, IV) проявляють діуретичний ефект на рівні гіпотіазиду. Слід відзначити, що введення калію в склад кислоти збільшує видільну функцію нирок. Сполуки даного ряду проявляють слабку бактеріостатичну активність у концентрації 125-500 мг/кг відносно золотистого стафілокока, сінної, кишкової, синьогнійної паличок і мікроорганізмів роду *Salmonella* (табл. 2).

За класифікацією К.К. Сидорова, калієві солі відносяться до малотоксичних сполук при

Таблиця 1 – **Фармакологічна активність та гостра токсичність калієвих солей 3,5-динітро- та 5-бром-3-сульфамойл-N-фенілантранілових кислот**

Сполука	Протизапальна активність, %, у дозі 20 мг/кг	Діуретична активність, %, у дозі 50 мг/кг	Анальгетична активність, %, у дозі 20 мг/кг	Гостра токсичність (DL ₅₀) при внутрішньочеревному введенні, мг/кг
I	0	158	21,4	—
II	37,9	238	42,6	2800/2000*
III	18,4	230	26,0	—
IV	5,4	236	18,1	—
V	38,4	214	50,8	3000/2000*
VI	19,4	192	9,6	—
VII	23,6	170,6	30,6	1500/301*
VIII	10,5	162,4	0	—
IX	0	240,5	0	—
X	31,2	86,4	39,4	1850/199*
XI	11,2	214,5	28,6	—
Вольтарен	37,5 (DE ₅₀)	—	—	363
Гіпотіазид	—	234,0	—	—
Анальгін	—	—	55,0 (DE ₅₀)	1197

Примітка. * – DL₅₀ відповідної N-фенілантранілової кислоти.

Таблиця 2 – **Бактеріостатична активність калієвих солей 3,5-динітро- та 5-бром-3-сульфамойл-N-фенілантранілових кислот**

Сполука	Бактеріостатична активність, мкг/кг							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	250	250	125	500	500	500	250	250
II	250	125	125	250	250	250	250	250
III	250	125	125	500	250	250	250	500
IV	500	125	250	500	250	250	250	250
V	250	125	125	250	500	500	250	250
VI	250	250	125	250	250	250	250	250
VII	125	250	250	500	125	500	500	500
VIII	250	250	500	1000	250	250	500	250
IX	500	250	250	1000	250	250	250	500
X	500	500	125	1000	125	500	500	500
XI	250	500	125	1000	250	500	500	500
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	125

Примітка. Як тест-мікроорганізми використовували:

- | | | |
|-----------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| 1. <i>Staphylococcus aureus</i> . | 4. <i>Pseudomonas cholereasuis</i> . | 7. <i>Salmonella thyphimurium</i> . |
| 2. <i>Bacillus subtilis</i> . | 5. <i>Salmonella cholereasuis</i> . | 8. <i>Salmonella thyphisuis</i> . |
| 3. <i>Escherichia coli</i> . | 6. <i>Salmonella Dublin</i> . | |

внутрішньошлунковому введенні, їх $DL_{50} = 1850-3000$ мг/кг. Як і очікувалось, солі на 25-40 % менш токсичні, ніж вихідні кислоти (табл. 1).

ВИСНОВОК. Шляхом динамічного модифікування структури похідних N-фенілантра-

нілових кислот показано, що введення іона калію в карбоксильну групу кислоти підвищує розчинність і біодоступність речовин. При цьому збільшується їх протизапальна, анальгетична, діуретична активність й знижується гостра токсичність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дрогозов С.М., Мохорт Н.А., Зупанец І.А. и др. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ, применяемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств (издание официальное). – Киев: ФКМЗ Украины, – 1994. – 40 с.

2. Исаев С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.І. та ін. Синтез, будова та протизапальна активність 0-(+)-глюкозиламонієвих солей 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот // Фарм. журн. – 2001. – № 2. – С. 53-56.

3. Исаев С.Г., Павлій О.І., Зупанець І.А. та ін. Синтез, будова та протизапальна активність 0-(+)-

глюкозамідів 3-нітро-N-фенілантранілових кислот // Фарм. журн. – 2001. – № 1. – С. 86-89.

4. Исаев С.Г., Свечникова Е.Н., Друговина В.В. и др. Синтез, биологическая активность N-фенилантраниловых кислот и их солей // Лек. чел. – 2001. – **16**, № 1-2. – С. 230-234.

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

6. Яковлева Л.В., Зупанец І.А. Использование модели каррагенинового отека у мышей при поиске противовоспалительных средств. – Харьков, 1987. – 6 с. – Деп. в Укр. НИИНТИ 07.07.87, № 1908. – Ук 87.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КАЛИЕВЫХ СОЛЕЙ 3,5-ДИНИТРО- И 5-БРОМ-3-СУЛЬФАМОИЛ-N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВИХ КИСЛОТ

С.Г. Исаев, Н.П. Кобзарь, А.И. Павлий, Е.Н. Свечникова
НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Осуществлен синтез новых калиевых солей 3,5-динитро- и 5-бром-3-сульфамойл-N-фенилантраниловых кислот, изучены их физико-химические свойства. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа и ИК-спектров. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что синтезированные вещества проявляют противовоспалительную, анальгетическую, диуретическую, бактериостатическую активность. Введение иона калия в структуру N-фенилантраниловых кислот приводит как к повышению активности, так и к снижению острой токсичности на 25-40 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: N-фенилантраниловые кислоты, калиевые соли, фармакологическая активность.

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF POTASSIUM SALTS OF 3,5-DINITRO- AND 5-BROM-3-SULPHAMOYL-N-PHENYLANTHRANYLIC ACIDS

S.H. Isayev, N.P. Kobzar, O.I. Pavliy, O.M. Sviechnikova
UKRAINIAN NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY, KHARKIV

Summary

Synthesis of new potassium salts of 3,5-dinitro- and 5-brom-3-sulphamoyl-N-phenylanthranilylic acids has been performed and their physical and chemical properties have been studied. The structure of synthesized compounds has been confirmed by data of ultimate and IR-spectroscopy. The purity has been tested by TLC. It has been determined the antiinflammatory, analgetical, diuretic, bacteriostatic activity of the synthesized compounds. It was established that introduction of potassium into the structure of N-phenylanthranilylic acids results in the increasing of activity and reducing of acute toxicity by 25-40 %.

KEY WORDS: N-phenylanthranilylic acids, potassium salts, pharmacological activity.

Отримано 04.02.2002 р.

Адреса для листування: С.Г. Ісаєв, вул. Гарібальді, 11-А, кв. 21, Харків, 61142, Україна.

КОРЕКЦІЯ УНІТІОЛОМ ТА ГЛІЦИЛ-ТРИПТОФАНОМ БІОХІМІЧНИХ ЗМІН У ТВАРИН З ХІМІЧНИМ УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ

Я.І. Гонський, Є.Б. Дмухальська, М.І. Калинський¹
 ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
 ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ КЕНТА, КЕНТ, США¹

Поєднаний вплив хлориду кадмію та солянокислого гідразину призводить до підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові й гомогенаті печінки та проникності еритроцитів у щурів різних вікових груп. Максимального ураження зазнають молоді тварини. Застосування унітіолу та гліцил-триптофану призводить до нормалізації досліджуваних показників, що дозволяє використовувати ці речовини для корекції хімічних уражень печінки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кадмієва інтоксикація, гідразин солянокислий, плазматична мембрана, унітіол, дипептид, вік.

ВСТУП. У побуті й на виробництві людина часто стикається з різними токсичними сполуками, які можуть діяти одночасно. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив на організм тварин хлориду кадмію та солянокислого гідразину в різні періоди життя, оскільки відомо, що молодий організм, особливо у період до статевого дозрівання, і старі тварини є більш чутливими до дії ксенобіотиків [1, 4, 5, 6].

Відомо, що унітіол, деякі амінокислоти та низькомолекулярні пептиди можуть зв'язувати кадмій і тим самим зменшувати його токсичну дію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих нелінійних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Інтоксикацію кадмієм викликали шляхом триразового внутрішньошлункового введення тваринам хлориду кадмію в дозі 3,5 мг/кг (0,04 LD₅₀) маси тіла з інтервалом в одну добу. Токсичне ураження печінки моделювали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення на 8-у добу від початку введення хлориду кадмію солянокислого гідразину з розрахунку 90 мг/кг маси тіла. З метою корекції порушень метаболічних процесів на 2, 4, 6 доби від початку впливу кадмію внутрішньошлунково вводили дипептид гліцил-триптофан у дозі 2 мг/кг маси

© Я.І. Гонський – д.м.н., проф., Є.Б. Дмухальська, М.І. Калинський – PhD, 2002.

тіла. Унітіол вводили через годину після ін'єкції солянокислого гідразину в дозі 100 мг/кг [3]. Експерименти проводили на щурах 3- (молоді), 6- (дорослі) та 18- (старі) місячного віку, яких поділили на чотири групи: інтактні, уражені, кориговані дипептидом і кориговані унітіолом. Декапітацію під легким ефірним наркозом проводили на 1, 4, 7 та 10 доби після введення гідразину. Для досліджень використовували сироватку крові, в якій визначали ферментативну активність АлАТ і АсАТ [2]. Досліджували також проникність еритроцитів [6]. Одержані дані обробляли статистичним методом із застосуванням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених нами досліджень відображено на рисунках 1 і 2. Як видно з даних рисунків, активність АлАТ і АсАТ у плазмі крові й гомогенаті печінки і лізис еритроцитів здорових тварин підвищуються з віком. Після введення тваринам хлориду кадмію та солянокислого гідразину відбуваються істотні зміни в плазматичних мембранах, про що свідчать підвищені активність амінотрансфераз та лізис еритроцитів.

Проникність еритроцитів порушувалася вже на 1-у добу експерименту і максимально зростала на 4-у добу в тварин усіх вікових груп. У наступні доби експерименту гемоліз еритроцитів зменшувався, але рівня інтактних тварин не досягав.

За ураження досліджуваними ксенобіотиками у щурів усіх вікових груп активність АлАТ та АсАТ в сироватці крові набувала максимальних значень на 4-у добу експерименту і для 3-, 6-, 18-місячного віку тварин становила, відповідно, 659, 444 та 619 % порівняно з інтактними. Щодо змін активності АсАТ, то вони аналогічні змінам АлАТ, але дещо нижчі.

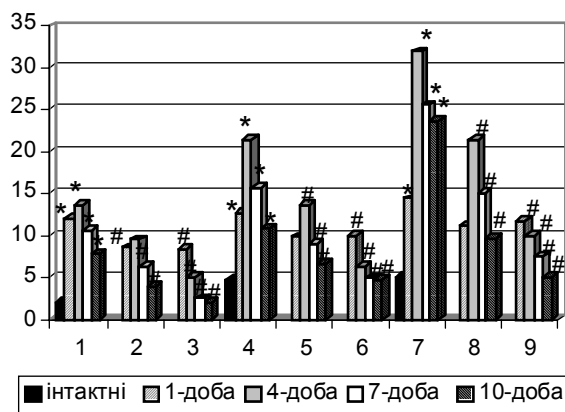
Отримані дані вказують на порушення цілості плазматичних мембран гепатоцитів метаболітами гідразину і хлориду кадмію.

З метою корекції цих порушень ми використовували унітіол та дипептид гліцил-триптофан.

Як видно з наведених даних (рис. 1 і 2), під впливом унітіолу і пептиду в уражених тварин усіх вікових груп спостерігалася чітка тенденція до зменшення ферментативної активності АлАТ і АсАТ у крові та підвищення резистентності еритроцитів до лізису протягом усього періоду дослідження.

У сироватці крові коригованих унітіолом тварин активність амінотрансфераз найнижчою була на 4-у добу досліджень і становила для АлАТ 70, 63 і 68 % від рівня уражених щурів, а АсАТ – 57, 62 і 68 %. Аналогічно змінювалася проникність еритроцитів. У наступні дні ферментативна активність амінотрансфераз і проникність еритроцитів змінювалися незначно.

Під впливом дипептиду гліцил-триптофану досліджувані показники на 7-у добу наближалися до рівня інтактних тварин. У цей період ферментативна активність АлАТ у крові 3-, 6-, 18-місячних щурів становила, відповідно, 24, 32, 29 % від уражених тварин, АсАТ – 55, 60 і 39 %. Зміна активності амінотрансфераз та проникності еритроцитів в напрямку норми під впливом використаних засобів корекції свідчить про відновлення плазматичних мем-



а) активність АлАТ у сироватці крові

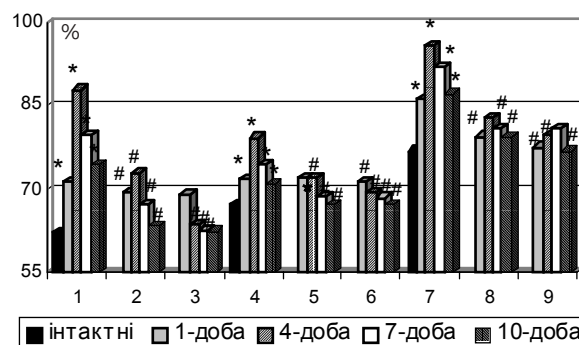


Рис. 1. Зміни проникності еритроцитів (%) у тварин 3-, 6-, 18-місячного віку.

Примітка. Тут і в наступному рисунку: 1, 2, 3 – тварини 3-місячного віку, 4, 5, 6 – щури 6-місячного віку, 7, 8, 9 – тварини 18-місячного віку. 1, 4, 7 – уражені хлоридом кадмію і солянокислим гідразинном, 2, 5, 8 – кориговані унітіолом і 3, 6, 9 – кориговані гліцил-триптофаном (n=6).

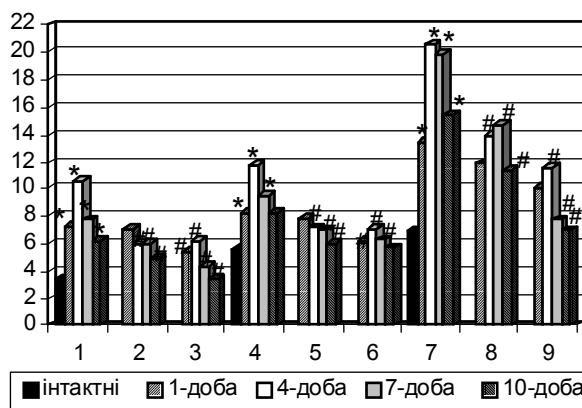
* – зміни достовірні відносно інтактних тварин (p<0,05), # – зміни достовірні відносно уражених щурів (p<0,05).

бран, що, ймовірно, пов'язано з комплексоутворювальною та антиоксидною властивостями унітіолу і пептиду [3], які можуть зв'язувати та знешкоджувати активні продукти метаболізму гідразину і кадмію.

ВИСНОВКИ. 1. Проникність еритроцитів і активність амінотрансфераз з віком у інтактних тварин зростають.

2. За ураження хлоридом кадмію та гідразинном відбувається порушення структури і функцій плазматичних мембран, про що свідчать зниження резистентності еритроцитів та підвищення ферментативної активності амінотрансфераз.

3. Використання унітіолу і гліцил-триптофану призводить до нормалізації досліджуваних показників, що свідчить про відновлення плазматичних мембран.



с) активність АсАТ у сироватці крові

Рис. 2. Зміни ферментативної активності АлАТ і АсАТ (ммоль/кг білка) у тварин 3-, 6-, 18-місячного віку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамович О.О., Грабовська О.І., Терлецька О.І. та ін. Процеси ліпідної пероксидації при хронічних ураженнях печінки // Мед. хім. – 2000. – 2, № 1. – С. 5-8.
2. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. – Одесса: ОКФа, 1994. – 415 с.
3. Максимов Ю.Н., Краснюк Е.П., Овруцкий В.М. и др. Антитоксическая эффективность ресинтезированного унитиола // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 1. – С. 34-37.
4. Мудрый И.В. Тяжелые металлы в системе почва-растение-человек (обзор) // Гиг. и сан. – 1997. – № 1. – С. 5-8.
5. Печенюк І.В., Мецишин І.Ф. Мембраностабілізуюча дія спиртового екстракту бджолиного пилку // Фарм. журн. – 1994. – № 3. – С. 100-102.
6. Rikans L.E., Yamano T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 2000. – 14, № 2. – P.110-117.

КОРРЕКЦИЯ УНИТИОЛОМ И ГЛИЦИЛ-ТРИПТОФАНОМ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ЖИВОТНЫХ С ХИМИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Я.И. Гонский, Е.Б. Дмухальская, М.И. Калинин¹

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ КЕНТА, КЕНТ, США¹

Резюме

Совместное влияние хлорида кадмия и солянокислого гидразина приводит к повышению ферментативной активности аминотрансфераз в сыворотке крови и гомогенате печени и проницаемости эритроцитов у животных всех возрастных групп. Максимальному поражению подвергаются молодые крысы. Применение унитиола и глицил-триптофана приводит к нормализации исследуемых показателей, что позволяет использовать эти вещества для коррекции химических поражений печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кадмиевая интоксикация, гидразин солянокислый, плазматическая мембрана, унитиол, дипептид, возраст.

THE CORRECTION OF THE BIOCHEMICAL CHANGES IN ANIMALS WITH CHEMICAL LESION OF THE LIVER BY UNITHIOL AND GLYCYLTRYPTOPHANE

Ya.I. Honsky, Ye.B. Dmukhalska, M.I. Kalynsky¹

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I. YA. HORBACHEVSKY
KENT STATE UNIVERSITY, KENT, USA¹

Summary

The combined effect of cadmium chloride and hydrochloric hydrazine causes the increase of aminotransferase activity in blood serum, as well as the increase of permeability of membranes in animals of all age groups. Maximum lesions have been observed in young rats. The investigated indices have been normalized due to unithiol and glycil-tryptophane application, which allows to use these compounds for chemical hepatic lesions correction.

KEY WORDS: cadmium intoxication, hydrochloric hydrazine, plasmatic membrane, unithiol, dipeptide, age.

Отримано 05.06.2002 р.

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

ВИВЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ ДО І ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ

І.О. Сорокіна

ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Наводяться результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів і рівня вільного холестерину при ішемічній хворобі серця до та після лікування форинітом, форидоном і фенігідіном.

Отримані дані можуть бути використані в клініці для обґрунтованого терапевтичного підходу з метою підвищення ефективності лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сироватка крові, жирні кислоти, ішемічна хвороба серця, жирнокислотний склад, ліпіди, газохроматографічний аналіз, вільний холестерин, антагоністи кальцію.

ВСТУП. Протягом останніх років з'являється все більше даних про роль ліпідів у регуляції і функціонуванні різноманітних мембранних систем [1]. Запальні процеси в організмі, які викликаються різними факторами, мають у своїй основі процеси деструкції мембран і клітин, які визначають характер і завершення захворювання. Механізми пошкодження мембран в організмі різносторонні, однак найбільш суттєва роль належить процесам вільнорадикального окиснення ліпідів [2]. Відомо, що основним субстратом процесу ліпідної пероксидації є поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК). Висока метаболічна активність насичених ЖК, участь їх у структурно-функціональних взаємозв'язках біологічних мембран визначають важливість вивчення цього класу ліпідів [3]. Для забезпечення функціонально-активного стану клітин суттєве значення має співвідношення насичених і ненасичених ЖК [4].

Метою наших досліджень було вивчити методом газорідинної хроматографії (ГРХ) жирнокислотний склад ліпідів і рівень вільного холестерину (ХС) сироватки крові при ішемічній хворобі серця (ІХС) до і після лікування.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 35 хворих віком 45-58 років з діагнозом ІХС. Як контроль використовували дані 15 практично здорових осіб тієї ж вікової групи. Діагноз встановлювали на основі анамнестичних даних, клінічного, лабораторного та інструментального методів дослідження.

© І.О. Сорокіна, 2002.

Фенігідин, фориніт і форидон використовували в дозах, відповідно, 3, 1 і 2 г на добу. Усі три препарати добре переносились хворими. Підвищення дози не викликало суттєвих побічних явищ, а також патологічних змін з боку біохімічних показників крові.

Підготовку біологічного матеріалу та газохроматографічний аналіз сироватки крові виконували за методикою [5].

У спектрі ЖК ліпідів сироватки крові було ідентифіковано 6 найбільш інформативних ЖК: $C_{16:0}$ – пальмітинова, $C_{18:0}$ – стеаринова, $C_{18:1}$ – олеїнова, $C_{18:2}$ – лінолева, $C_{18:3}$ – ліноленова, $C_{20:4}$ – арахідонова.

Кількісну оцінку ЖК ліпідів сироватки крові проводили за методом нормування площин метильованих похідних ЖК і визначали їх вміст у відсотках.

Кількісну оцінку рівня вільного ХС виконували за методом абсолютного калібрування, ідентифікацію і кількісний розрахунок проводили за допомогою стандартного розчину ХС концентрацією 1 мг/мл, чутливість визначення – 0,2 мкг/мкл.

Статистичну обробку результатів проводили за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Клінічне вивчення антагоністів кальцію (фенігідину, форидону, фориніту) дозволило встановити виражений терапевтичний ефект у хворих на ІХС.

На фоні використання фенігідину, форидону, фориніту спостерігалось покращання клі-

нічного статусу хворих: зменшувалися больовий синдром, прояви хронічної серцевої недостатності (послаблення задишки при фізичному навантаженні, набухання шийних вен, периферичний набряк, скорочення розмірів печінки, збільшення діурезу), знижувався АТ. Однак вираження антиангінальної і гіпотензивної дії у препаратів було різним.

Найбільш виражений антиангінальний ефект і поєднаний з ним гіпотензивний спостерігався у фенігідину (82 % випадків). На другому місці за антиангінальним ефектом був фориніт (76 %), на третьому – форинон (70 % випадків). Однак гіпотензивна дія більш виражена у форинону, ніж у фориніту.

У результаті лікування фенігідином, фориноном і форинітом у хворих підвищувалась толерантність до фізичних навантажень, зменшувались частота нападів стенокардії і кількість прийнятого нітрогліцерину. Ці ефекти були статистично достовірними. Терапевтична ефективність препаратів кальцію, які використовувалися, проявлялася як при одноразовому, так і при курсовому лікуванні.

Результати газохроматографічного аналізу ліпідів сироватки крові хворих на ІХС до і після лікування наведено в таблиці 1.

При порівнянні жирнокислотного складу сироватки крові хворих на ІХС з контролем виявлено достовірну різницю у співвідношенні насичених і ненасичених ЖК. Причому для хворих на ІХС характерною є підвищена ненасиченість ліпідного комплексу сироватки за рахунок зниженого вмісту пальмітинової і стеаринової ЖК. Не зважаючи на достовірне зменшення вмісту олеїнової ЖК, сума ненасичених ЖК вірогідно підвищувалася. Достовірно збільшувалася сума поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) за рахунок підвищеного вмісту есенціальних ЖК (лінолевої й арахідонової). Рівень вільного ХС достовірно був підвищений у 3 рази.

Таким чином, при ІХС жирнокислотна формула ліпідів сироватки крові характеризується підвищеною ненасиченістю за рахунок есенціальних ЖК, що, можливо, пов'язано з порушенням метаболізму ПНЖК у результаті активізації процесу ліпідної пероксидації на фоні підвищеного рівня вільного ХС.

При оцінці ліпідних показників сироватки крові хворих на ІХС після лікування форинітом, фориноном і фенігідином можна відмітити таке:

1. Після лікування форинітом нормалізувалися окремі ЖК сироватки крові, знижувався вміст лінолевої й арахідонової ЖК на фоні незмінної суми ПНЖК. Рівень вільного ХС знижувався в 3 рази, порівняно з контролем.

2. Після лікування форинітом нормалізація жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові полягала в зниженні до контрольних значень суми ненасичених ЖК за рахунок достовірного збільшення вмісту пальмітинової ЖК. Рівень ПНЖК також знижувався, майже у 2 рази, причому за рахунок зменшення вмісту арахідонової ЖК. Рівень вільного ХС теж знижувався, але не до показників контролю.

3. Після лікування фенігідином жирнокислотний склад ліпідів сироватки крові теж нормалізувався і наближався до контрольних значень. Достовірне підвищення вмісту олеїнової ЖК, а також пальмітинової, сприяло вірогідному збільшенню насиченості ліпідного комплексу сироватки крові. Рівень ПНЖК знижувався до контрольних показників за рахунок достовірного зменшення вмісту арахідонової ЖК. Рівень вільного ХС знижувався у 2 рази.

Отримані результати вказують на позитивний ефект досліджуваних препаратів на жирнокислотну формулу ліпідів сироватки крові при ІХС.

ВИСНОВОК. Вивчені препарати нормалізують ліпідні показники сироватки крові при ІХС, сприяючи оптимізації рівня ПНЖК і зниженню вмісту вільного ХС у 2-3 рази.

Таблиця 1 – Зміна жирнокислотного складу ліпідів і рівня вільного холестерину сироватки крові при ІХС до і після лікування (у %)

Назва ЖК	Контроль	До лікування ІХС	Після лікування форинітом	Після лікування фориноном	Після лікування фенігідином
C _{16:0}	41,9±0,9	32,8±0,9	32,3±2,0	45,9±1,1	37,7±1,4
C _{18:0}	15,1±1,1	10,2±0,8	11,2±0,7	12,4±2,8	15,0±1,9
C _{18:1}	24,2±0,6	15,1±0,3	13,0±0,9	15,0±1,5	25,5±1,4
C _{18:2}	16,0±1,4	20,1±0,5	12,2±1,0	18,8±1,5	18,8±1,3
C _{18:3}	—	—	3,4±0,2	—	—
C _{20:4}	2,8±0,3	21,8±1,3	0,7±0,1	8,1±0,4	3,0±0,4
C _{20:5}	—	—	27,2±0,9	—	—
СумаНЖК	57,0±1,3	43,0±1,6	43,5±2,1	58,2±2,3	52,7±2,5
СумаННЖК	43,0±1,3	54,0±1,6	56,5±2,1	41,8±2,3	47,3±2,5
СумаПНЖК	18,0±1,4	41,9±1,7	43,5±2,0	26,8±1,8	21,8±1,2
Вміст ХС, мг/мл	0,030±0,003	0,09±0,01	0,030±0,005	0,06±0,01	0,04±0,01

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 285 с.
2. Барабой В.А., Сутовой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Наукова думка, 1997. – Ч. 1. – 202 с.
3. Бурлакова Е.Б., Крамаков С.А., Храпова Н.Г. Роль токоферола в перекисном окислении липидов биомембран // Биол. мембр. – М.: Наука, 1998. – № 2. – С. 137-167.
4. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М. и др. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кардіол. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – С-Пб.: Питер, 1999. – 505 с.

ИЗУЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

И.А. Сорокина

ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Приводятся результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава липидов и уровня свободного холестерина при ишемической болезни сердца до и после лечения форинитом, форидоном и фенигидином.

Полученные данные могут быть использованы в клинике для обоснованного терапевтического подхода с целью повышения эффективности лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сыворотка крови, жирные кислоты, ишемическая болезнь сердца, жирнокислотный состав, липиды, газохроматографический анализ, свободный холестерин, антагонисты кальция.

STUDYING OF FATTY ACID STRUCTURE OF BLOOD SERUM LIPIDS AT ISCHEMIC HEART DISEASE BEFORE AND AFTER TREATMENT

I.O. Sorokina

INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, KYIV

Summary

The results of gas chromatography analysis of fatty acid structure of lipids and level of free cholesterol at ischemic heart disease before and after treatment by forinit, foridon and fenigidin are presented in the article.

The received data may be used in clinic for the proved therapeutic approach with the purpose of increase of treatment efficiency.

KEY WORDS: blood serum, fatty acids, ischemic heart disease, fatty acid structure, lipids, gas chromatography analysis, free cholesterol, antagonists of calcium.

Отримано 25.03.2002 р.

Адреса для листування: І.О. Сорокіна, вул. Плеханова, 4Б, кв.32, Київ, 02002, Україна.

ЛОКАЛІЗАЦІЯ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ПАГОНАХ РОСЛИН ПОРЯДКУ BETULALES РОДУ CORYLUS L.

Т.М. Гонтова, О.П. Хворост, А.Г. Сербін

НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

За допомогою гістохімічних реакцій встановлено локалізацію поліфенольних сполук (ПФС) у пагонах 4 видів та двох варіацій роду ліщина *Corylus L.* Загально родовими ознаками є накопичення ПФС у покривних тканинах і збільшення їх вмісту в здерев'янілих стеблах. За даними люмінесцентного аналізу, в пагонах *C. avellana* флавоноїдні сполуки у великій кількості накопичуються в покривній тканині – епідермі й паренхімі кори та лубу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліщина, стебла, поліфенольні сполуки, гістохімія, люмінесцентний аналіз.

ВСТУП. Порядок Betulales об'єднує дві родини – березові Betulaceae S.F. Gray (роди: береза *Betula L.*, вільха *Alnus Mill.*, душексія *Duschekia Opiz*) та ліщинові Corylaceae Mirb. (роди граб *Carpinus L.*, ліщина *Corylus L.*, хмілеграб *Ostrya Scop.*). Рід *Corylus L.* у світовій флорі, за різними літературними джерелами, налічує від 15 до 22 видів. На території України зустрічаються три види [1].

Метою нашої роботи було встановлення локалізації поліфенольних сполук (ПФС) за допомогою гістохімічних реакцій у тканинах асимілюючих пагонів рослин роду *Corylus L.* (*C. heterophylla Fisch. ex Trautv.*, *C. mandshurica Maxim.*, *C. colurna L.*, *C. avellana L.*, *C. avellana var. atropurpurea Petz. et Kirchn.*, *C. avellana var. laciniata Petz. et Kirchn.*) [4] і вивчення речовин флавоноїдної природи стебел *C. avellana* як найпоширенішого вітчизняного виду за допомогою люмінесцентного аналізу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для гістохімічного аналізу користувались свіжозібраною та сухою сировиною. Зрізи готували за загальноприйнятими методиками [3]. Застосовували мікрохімічні реакції за методами Саньо (з біхроматом калію), Гардинера (з молібдатом амонію та хлоридом амонію) і Бородіна (з хлоридом тривалентного заліза) [3].

Місцезнаходження сполук флавоноїдної природи встановлювали за допомогою люмінесцентного мікроскопа МЛ-2 при освітленні препаратів синьо-фіолетовими променями (СФ) ($\lambda=400$ нм, світлофільтр «УФС-15») з вико-

ристанням іонізуючих та комплексоутворюючих домішок. Характер флуоресценції вмісту клітини на зрізах порівнювали з флуоресценцією індивідуальних речовин та їх сумішей.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За нашими даними, загальна закономірність локалізації ПФС у досліджених видів полягає в тому, що вони переважно накопичуються в периферичних тканинах – епідермі асимілюючих стебел, клітинах трихом, перидермі здерев'янілих стебел, а також у субепідермальних тканинах – клітинах коленхіми (табл. 1). Це можна пояснити існуючими поглядами щодо біохімічного значення ПФС як специфічних токсичних речовин, які можуть інгібувати ріст патогенних грибів та зменшувати швидкість розмноження вірусів, особливо при механічних пошкодженнях рослинних тканин [2].

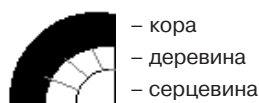
У здерев'янілих стеблах усіх досліджених видів ПФС накопичуються в більшій кількості, порівняно з асимілюючими стеблами цих же рослин. У ксилемі обох типів стебел ПФС накопичуються у клітинах серцевинних променів і майже відсутні у порожнинах та оболонках клітин трахей і лібриформу. Вміст ПФС у ксилемі стебел усіх рослин незначний, порівняно з тканинами кори. За отриманими даними можна зробити висновок про те, що для кожного з досліджених видів індивідуальними є як ступінь накопичення ПФС у тканинах, так і їх співвідношення в різних тканинах стебел. Невеликою є кількість ПФС у ксилемі та серцевині стебел обох типів *C. avellana var. atropurpurea*, *C. heterophylla*, *C. colurna*. Помірну кількість ПФС відмічено в тих самих тканинах *C. mandshurica*.

© Т.М. Гонтова – к.фарм.н., О.П. Хворост – к.фарм.н., А.Г. Сербін – д.фарм.н., проф., 2002.

Таблиця 1 – Локалізація поліфенольних сполук у тканинах пагонів видів роду *Corylus L.*

Види роду	Фрагмент зрізу	Асимілюючий пагін			Здерев'янілий пагін		
		1	2	3	1	2	3
<i>C. avellana L.</i>							
<i>C. avellana var. atropurpurea P etz. et Kirchn.</i>							
<i>C. avellana var. laciniata Petz. et Kirchn.</i>							
<i>C. heterophylla Fisch. ex Trautv.</i>							
<i>C. mandshurica Maxim.</i>							
<i>C. colurna L.</i>							

Примітки:



1 – за методом Бородіна, 2 – за методом Саньо, 3 – за методом Гардинера.

Ступінь накопичення ПФС: – велика кількість, – помірна кількість, – незначна кількість, – не виявлено.

Значна кількість ПФС накопичується в корі здерев'янілих пагонів *C. Avellana*, асимілюючих та здерев'янілих пагонів *C. heterophylla*, *C. mandshurica*.

Люмінесцентний аналіз асимілюючого стебла *C. avellana* показав, що первинною флуоресценцією в СФ-променях відзначаються всі його тканини (табл. 2). Під дією реактивів у

Таблиця 2 – Результати люмінесцентного аналізу асимілюючого стебла *Corylus avellana L.*

Назва тканини	Нативне забарвлення вмісту клітин		Забарвлення вмісту клітин після обробки реактивом			
			1		2	
	видиме світло	СФ-світло	видиме світло	СФ-світло	видиме світло	СФ-світло
Трихоми	-	жов.-кор.	жов.	жов.-кор.	жов.	жов.
Епідерма	жов.-буре	св.-кор.	св.-кор.	жов.-кор.	рож.	рож.
Корова паренхіма	св.-кор.	жов.-кор.; оболонки блак.	кор.	кор.	жов.	жов.-зел.
Флоема	-	жов.-кор.	буро-кор.	буро-кор.	св.-кор.	кор.
Ксилема	-	жов.-зел.	жов.	жов.	блак.	блак.
Перимедулярна зона	-	кор.; оболонки блак.	блак.	блак.	блак.	блак.
Серцевина	-	оболонки жов.-кор.	жов.	жов.	яск.-жов.	яск.-жов.

Примітка. 1 – 10 % розчин гідроксиду натрію у 95 % розчині етанолу; 2 – 15 % розчин хлориду алюмінію у 95 % розчині етанолу; “-” – вміст клітин незабарвлений; “жов.” – жовте забарвлення; “яск.-жов.” – яскраво-жовте; “жов.-кор.” – жовто-коричневе; “кор.” – коричневе; “св.-кор.” – світло-коричневе; “жов.-зел.” – жовто-зелене; “блак.” – блакитне; “буро-кор.” – буро-коричневе; “оболонка” – клітинна оболонка.

видимому світлі посилюється чи змінюється вже існуюче забарвлення вмісту клітин епідерми та корової паренхіми або ж з'являється забарвлення вмісту клітин трихом, флоєми, ксилеми, перимедулярної зони, серцевини. Подібний характер випромінювання спостерігали при СФ-опроміненні тканин стебел після обробки тими ж реактивами.

Результати люмінесцентного аналізу свідчать про те, що в асимілюючому стеблі *C. avellana* речовини флавоноїдної природи накопичу-

ються в епідермі, трихомах, коровій та луб'яній паренхімі.

ВИСНОВКИ. 1. Загальнородовою рисою, за результатами гістохімічного аналізу, є накопичення ПФС у покривних та нижчерозташованих тканинах обох типів стебел.

2. У здерев'янілих стеблах ПФС накопичуються переважно в коровій паренхімі.

3. До видів, що містять велику кількість ПФС, слід віднести *C. avellana*, *C. heterophylla*, *C. mandshurica*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доброчаева Д.Н., Котов Н.И., Прокудин Ю.Н. и др. Определитель высших растений Украины. – К.: Вища школа, 1987. – С. 62.

2. Запрометов М.Н. Фенольные соединения растений и их биогенез // Итоги науки и техники. Серия: Биол. хим. – М.: Наука, 1988. – 188 с.

3. Фурст Г.П. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. – М.: Наука, 1979. – 154 с.

4. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР. – Л.: Наука, 1981. – 510 с.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПОБЕГАХ РАСТЕНИЙ ПОРЯДКА BETULALES РОДА CORYLUS L.

Т.Н. Гонтовая, О.П. Хворост, А.Г. Сербин
НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

С помощью гистохимических реакций установлено локализацию полифенольных соединений (ПФС) побегов 4 видов и двух вариаций рода лещина *Corylus L.* Общеродовыми признаками являются накопление ПФС в покровных тканях и увеличение их содержания в одревесневелых стеблях. По данным люминесцентного анализа, у побегах *C. avellana* флавоноидные соединения в значительном количестве накапливаются в покровной ткани – эпидерме и паренхиме коры и луба.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лещина, стебли, полифенольные соединения, гистохимия, люминесцентный анализ.

LOCALIZATION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN STEMS OF BETULALES ORDER CORYLUS L. GENUS PLANTS

Т.М. Hontova, О.Р. Khvorost, А.Н. Serbin
NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

The localization of polyphenolic compounds (PPhS) in the stems of 4 species and two variations of *Corylus avellana L.* genus has been established by means of histochemical reactions. The common features of the genus are PPhS accumulation and the increase of their content in the wooden stems. According to the luminescent analysis data flavonoid substances in *C. avellana* are accumulated in great amounts in the covering tissues – epidermis and parenchima of bark and floem.

KEY WORDS: *Corylus*, stems, polyphenolic compounds, histochemistry, luminescent analysis.

Отримано 10.06.2002 р.

Адреса для листування: Т.М. Гонтова, Національна фармацевтична академія України, вул. Пушкінська, 27, Харків, 61002, Україна.

ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ СПОЛУК, ОТРИМАНИХ З ЛИСТЯ ВИНОГРАДУ

В.С. Кисличенко, А.А. Халіль Абуюсеф, В.В. Король, О.В. Криворучко
 НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

За допомогою хроматографічних методів аналізу визначено якісний склад ліпофільної фракції з листя винограду, а фізико-хімічними методами встановлено кількісний вміст хлорофілів, каротиноїдів, вільних жирних кислот. Вперше виявлено наявність поліїнів та порфіринів. Попередні фармакологічні дослідження показали високу протизапальну, антимікробну та ранозагоювальну дію мазі з ліпофільним екстрактом листя винограду.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ідентифікація, ліпофільні речовини, виноград культурний.

ВСТУП. Останнім часом приділяється велика увага дослідженню ліпофільних фракцій, отриманих з лікарських рослин, і розробці на їх основі лікарських препаратів різної біологічної дії.

Метою нашої роботи було отримати ліпофільну фракцію з листя винограду культурного та встановити в ній якісний склад і кількісний вміст окремих груп ліпофільних речовин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було проведено одержання ліпофільної фракції двома методами. У першому методі подрібнене листя винограду екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Хлороформний екстракт випаровували на ротаційному випаровувачі до видалення екстрагенту та визначали відсотковий вміст отриманого сумарного комплексу. В другому методі досліджувану сировину екстрагували 50 % етанолом шляхом мацерації. Спирто-водний екстракт випаровували до водного залишку й обробляли хлороформом. Хлороформну фракцію випаровували на ротаційному випаровувачі до видалення залишків хлороформу. В результаті проведених досліджень вихід ліпофільного екстракту, отриманого першим методом, склав 11,7 %, а другим – 11,26 %.

Визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" у системах розчинників гексан-ацетон (6:4) – I напрямом, гексан-ацетон (6:2) – II напрямом. Схему тонкошарової

хроматографії хлороформного витягу з листя винограду культурного сорту Дабугі наведено на рисунку 1.

Локалізацію хлорофілів на хроматограмі визначали за характерним темно-зеленим забарвленням, а в УФ-світлі – за яскраво-червоною флуоресценцією. Тому речовини 8-9, 19-21 були віднесені нами до хлорофілів. Речовини 5-7, 10-11, що в УФ-світлі мали також червону флуоресценцію, попередньо віднесені нами до полярних, нерозчинних у воді сполук – порфіринів, які при обробці фосфорно-вольфрамовою кислотою мали слабо-рожеве забарвлення, що змінювалося до бузкового, котре з часом зникало [3].

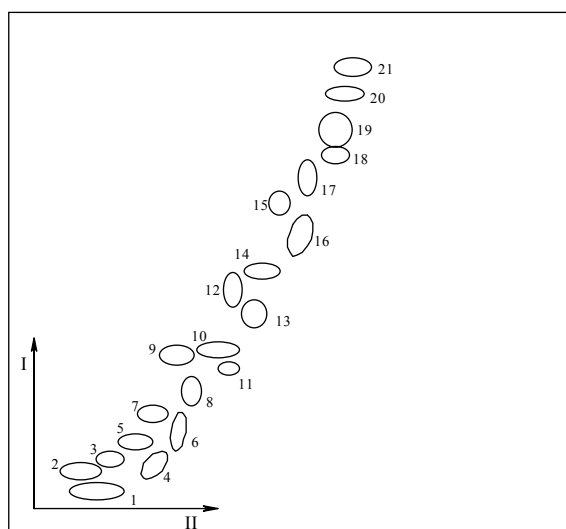


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматографії хлороформної фракції з листя винограду культурного сорту Дабугі.

© В.С. Кисличенко – д.фарм.н., проф., А.А. Халіль Абуюсеф, В.В. Король – к.фарм.н., О.В. Криворучко – к.фарм.н, 2002.

Плями 12-18, які мали жовто-зеленуватий відтінок на хроматограмі, за попередніми результатами додаткового хроматографічного визначення віднесені нами до речовин вуглеводневої природи групи ацетилену – поліїнів, які ми всебічно не вивчали.

Якісне визначення каротиноїдів на хроматограмах проводили за характерним жовтим і жовтогарячим забарвленням, а в УФ-світлі – за коричневою флуоресценцією плям. Речовини 1-4 були віднесені нами до каротиноїдів. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограму обробляли 2 % розчином п-диметиламінобензальдегіду в суміші етанолу та хлористоводневої кислоти. Після обробки хроматограму висушували при температурі 80-90 °С протягом 5-7 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювалися в рожево-фіолетовий колір [1, 4].

Кількісне визначення хлорофілів проводили на фотоелектроколориметрі "КФК-2" з червоним світлофільтром у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був 96 % етанол. Одночасно вимірювали оптичну густину стандартного розчину Гетрі в тих же умовах.

Кількісний вміст каротиноїдів визначали на спектрофотометрі "СФ-26" при довжині хвилі 450 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був гексан. Паралельно вимірювали оптичну густину розчину стандартного зразка біхромату калію. Як розчин порівняння використовували воду очищену [1, 4].

Також нами було проведено визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних жирних кислот у ліпофільному екстракті з листя винограду культурного сорту Дабугі.

Для проведення аналізу подрібнене листя винограду екстрагували гексаном. Екстракт концентрували у вакуумі до повного видалення розчинника і використовували для подальших досліджень. Метилінові ефіри жирних кислот, які отримували прямим метилюванням ліпофільного екстракту, аналізували методом газорідинної хроматографії (ГРХ) на хроматографі "Chrom-5" за таких умов: детектор – полум'яно-іонізаційний; подання (мл/хв) газу-носія – 30; водню – 35; повітря – 350; температура (°С) розділення – 186; інжектора – 230; детектора – 220.

Як твердофазний носій використовували "Інертон-AW" із зернінням 0,16-0,20 мм. Для гальмування каталітичної активності носій обробляли диметил дихлорсиланом. Як рідинну фазу використовували диетиленглікольсукцинат у кількості 10 % від маси носія.

Для ідентифікації кислот проводили порівняння показників часу утримання піків метилових ефірів і стандартної суміші. Вміст жирних кислот розраховували у відсотках від їх суми [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 наведено результати дослідження кількісного вмісту хлорофілів та каротиноїдів у ліпофільному екстракті з листя винограду культурного сорту Дабугі. Особливий інтерес викликають

Таблиця 1 – Кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів у ліпофільному екстракті з листя винограду культурного сорту Дабугі

Назва сировини	Вміст біологічно активних речовин	
	хлорофіли, %	каротиноїди, мг %
Листя винограду культурного сорту Дабугі	9,90±0,76	832,00±0,95

Таблиця 2 – Жирнокислотний склад листя винограду культурного сорту Дабугі

№ за/п	Назва кислоти	Загальна формула	Вміст, % від суми
1	Масляна	C _{4:0}	0,06
2	Капронова	C _{6:0}	0,05
3	Каприлова	C _{8:0}	0,02
4	Капринова	C _{10:0}	у слідових кількостях
5	Лауринова	C _{12:0}	0,10
6	Міристинова	C _{14:0}	0,10
7	Пальметинова	C _{16:0}	8,43
8	Пальметолейнова	C _{16:1}	0,86
9	Маргарина	C _{17:0}	у слідових кількостях
10	Стеаринова	C _{18:0}	2,59
11	Олейнова	C _{18:1}	11,44
12	Лінолева	C _{18:2}	61,93
13	Ліноленова	C _{18:3}	3,13
14	Арахідонова	C _{20:0}	13,47
15	Ейкозанова	C _{20:1}	0,91
16	Ерукова	C _{22:1}	8,03
17	Докозатрієнова	C _{22:2}	6,18

дані щодо значного вмісту каротиноїдів – понад 800 мг%.

Як видно з таблиці 2, в кількісному відношенні серед насичених жирних кислот листя винограду переважають арахідонова та пальмітинова, а серед ненасичених – ліноленова, лінолева, ерукова та докозадієнова.

За попередніми фармакологічними даними, мазь з ліпофільним екстрактом з листя винограду має високу ранозагоювальну та протизапальну дію. Серед 17 ідентифікованих жирних кислот найбільше є лінолевої та ліноленової, що також позитивно впливає на ці види фармакологічної дії. Хлорофілам та поліінам притаманні антимікробні властивості, тому

вважаємо за доцільне провести подальші поглиблені фармакологічні дослідження мазі з ліпофільним екстрактом з листя винограду.

ВИСНОВКИ. 1. В ліпофільному екстракті з листя винограду культурного сорту Дабугі наявні такі класи природних сполук вуглеводневої природи, як порфірини та полііни.

2. Якісний склад та кількісний вміст хлорофілів, каротиноїдів та вільних жирних кислот у ліпофільному екстракті з листя винограду культурного сорту Дабугі передбачає перспективність фармакологічних досліджень стосовно вивчення антимікробної, протизапальної та ранозагоювальної дії цього препарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гудвин Т.В. Сравнительная биохимия каротиноидов: Пер. с англ. – М.: Изд-во иностр. лит., 1954. – 396 с.

2. Кисличенко В.С., Криворучко Е.В., Комиссаренко Н.Ф. Липиды Ribes nigrum L. // Фармаком. – 1998. – № 2. – С. 26-28.

3. Король В.В. Фармакогностичне вивчення *Lotus corniculatus*: Автореф. дис. ...канд. фармац. наук. – Харків, 1999. – 16 с.

4. Масло облепиховое *Oleum Hippophaes* // ФС 42-1730-86. – 7 с.

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА

В.С. Кисличенко, А.А. Халиль Абуiosef, В.В. Король, Е.В. Криворучко
НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

С помощью хроматографических методов анализа определен качественный состав липофильной фракции из листьев винограда, а физико-химическими методами установлено количественное содержание хлорофиллов, каротиноидов, свободных жирных кислот. Впервые выявлено наличие полиинов и порфиринов. Предварительные фармакологические исследования показали высокое противовоспалительное, антимикробное и ранозаживляющее действие мази с липофильным экстрактом листьев винограда.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: идентификация, липофильные вещества, виноград культурный.

ANALYSIS OF LIPOPHILIC MATERIALS OBTAINED FROM VINE LEAVES

V.S. Kyslychenko, A.A. Khalil Abuyousef, V.V. Korol, Y.V. Kryvoruchko
NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

With the help of chromatographic methods of the analysis the qualitative structure of a lipophilic fraction from vine leaves is established, and the physico-chemical methods determine the quantitative contents of chlorophylls, carotenoids, free fatty acids. Availability poliins and of porphyrins is established for the first time. The preliminary pharmacological researches have shown high antiinflammatory, antimicrobial and wound-adhesive activity of ointment with a lipophilic extract of vine leaves.

KEY WORDS: allocation, identification, lipophilic materials, vine cultural.

Отримано 21.06.2002 р.

Адреса для листування: В.С. Кисличенко, Національна фармацевтична академія України, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ВПЛИВ ОВЕСТИНУ ТА ФЛУРЕНІЗИДУ НА ПОКАЗНИКИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ І СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ ПРИ ПОСТКАСТРАЦІЙНОМУ СИНДРОМІ

С.О. Галнікіна

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У тварин з посткастраційним синдромом, зумовленим хірургічним видаленням матки та придатків, досліджували активність процесів ліпопероксидації та стан антиоксидної системи за умов місцевого застосування овестину та флуренізиду. Встановлено, що введення овестину не призводить до суттєвих змін у системі ПОЛ/АОС. Використання флуренізиду супроводжується зниженням інтенсивності процесів переокиснення ліпідів та активацією системи антиоксидного захисту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: посткастраційний синдром, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидна система, корекція, овестин, флуренізид.

ВСТУП. Як показано рядом дослідників, шкіра є органом-мішенню для статевих гормонів [2]. Посткастраційний синдром, який виникає внаслідок хірургічного видалення матки та придатків, супроводжується значними порушеннями фізіологічних та метаболічних процесів [4, 5]. Суттєві порушення при важкому перебізі посткастраційного синдрому спостерігаються у шкірі та її придатках – виникають дистрофічні зміни, які можуть бути причиною виникнення ряду шкірних захворювань [2].

Дослідженню фізіологічних та клініко-біохімічних аспектів посткастраційного синдрому присвячено ряд робіт [4, 5]. Детально вивчено численні центральні та периферичні патогенетичні фактори, які беруть участь у формуванні даного патологічного стану. Деякі дослідники вказують на значну роль порушень процесів ліпопероксидації та стану антиоксидної системи в патогенезі змін, що виникають за посткастраційного синдрому [4, 5].

Метою нашого дослідження було вивчити вплив овестину та флуренізиду (препаратів, які використовують місцево для лікування запальних та дистрофічних процесів слизової оболонки піхви) на активність процесів ліпопероксидації та стан системи антиоксидного захисту при посткастраційному синдромі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на 60 статевозрілих щурах-самках віком 8-10 міс. Тварин поділили на три групи:

© С.О. Галнікіна – к.м.н., 2002.

I – інтактні; II – контрольні (щури, яким оперативним шляхом видалили матку з придатками); III – оперовані тварини, яким застосовували овестин та флуренізид. Овестин вводили інтравагінально в дозі, що відповідає 0,01 мг/кг естріолу, з 14-ї доби після оперативного втручання протягом 15 днів, флуренізид – з розрахунку 1,4 мг/кг з 20-ї доби впродовж 10 днів.

Активність процесів ліпопероксидації оцінювали за концентрацією в плазмі крові дієнових кон'югатів [8], гідроперекисів ліпідів [3] та ТБК-реагуючих продуктів [1]; стан антиоксидної системи – за активністю в плазмі крові супероксиддисмутази (СОД) [9], каталази (КТ) [7], церулоплазміну (ЦП) [6] та концентрацією відновленого глутатіону (ГSH) [10].

Дослідження проводили на 1, 7, 20, 30 та 45 доби після виконання операції. Тварин декапітували під тіопенталовим наркозом. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Із результатів, наведених у таблиці 1, видно, що видалення матки з придатками в контрольних тварин супроводжувалось значними змінами в системі ПОЛ/АОС. На 1-у добу після операції нами зафіксовано виражене зростання показників вільнорадикального переокиснення ліпідів. Так, концентрація дієнових кон'югат підвищилась у 2 рази, гідроперекисів ліпідів – у 1,9 рази, ТБК-активних продуктів – у 1,8 рази. Нами зафіксовано також зростання активності показ-

ників антиоксидного захисту. Активність СОД на 1-у добу підвищилась на 11 %, однак це зростання було недостовірним, каталази – на 65 %, а активність основного антиоксиданта плазми крові – церулоплазмину – на 14 %. Не зазнавала суттєвих змін концентрація відновленого глутатіону.

На 7-у добу від моменту видалення матки та додатків вміст продуктів пероксидації ліпідів дещо зменшувався, однак був достовірно вищим, порівняно зі здоровими тваринами. Концентрація дієнових кон'югат у цей термін на 65 %, гідроперекисів ліпідів – на 62 %, ТБК-активних продуктів – на 58 % перевищувала рівень щурів, яким оперативне втручання не проводили. Ці зміни можна пояснити різким зниженням в організмі концентрації естрогенів, що призводить до порушення обмінних процесів та деградації мембранних структур. На відміну від 1-ї доби, на 7-у ми спостерігали пригнічення системи антиоксидного захисту, що, очевидно, є наслідком її виснаження.

Через 20 діб від моменту оперативного втручання нами відмічено незначну стабілізацію показників у системі ПОЛ/АОС. Концентрація дієнових кон'югат та гідроперекисів ліпідів знижувалась, порівняно з попередніми термінами, і становила, відповідно, 136 та 132 % від рівня здорових тварин, а ТБК-активних продуктів – 128 %. Це може бути наслідком формування в організмі компенсаторних механізмів регуляції, а також певної стабілізації антиоксидної системи. Так, активність СОД та церулоплазмину, порівняно з ранніми періодами експерименту, дещо підвищувалась, становлячи, відповідно, 72 та 78 % від норми. Концентрація відновленого глутатіону також дещо зросла.

До 30-ї та 45-ї доби після операції хоч і спостерігалась певна нормалізація активності процесів ліпопереокиснення та стану АОС, однак до норми досліджувані нами показники так і не приходили.

У тварин, яким вводили овестин, на 20-у добу від моменту оперативного втручання (6-а доба від початку введення овестину) суттєвих змін з боку показників ліпопероксидації та антиоксидної системи не спостерігалось, тобто можна констатувати, що застосування овестину суттєво не впливає на інтенсивність ліпопереокиснення, що пояснюється низькою дозою та відсутністю в даного препарату системної дії внаслідок поганого всмоктування промєстриєну через слизову оболонку. На 30-у добу від оперативного видалення матки та додатків нами відмічено достовірно, порівняно з контролем, зниження концентрації ДК та гідроперексидів ліпідів, а також ТБК-активних продуктів. Активність антиоксидних ферментів під впливом застосування досліджуваних препаратів достовірно не змінювалась. На 45-у добу експерименту показники інтенсивності переокиснення ліпідів наближались до рівня інтактних тварин. Так, концентрація ДК становила 104 %, гідроперекисів ліпідів – 105 %, ТБК-активних продуктів – 101 % від рівня здорових щурів. Підвищувалась також активність ферментів антиоксидного захисту. Зокрема, показник СОД зріс на 15,7 %, церулоплазмину – на 25,1 %, концентрація відновленого глутатіону – на 12,3 %. Каталазна активність суттєвих змін не зазнавала. Отже, можна вважати, що флуренізид здатен всмоктуватись через слизову оболонку піхви і при місцевому застосуванні проявляє також системну дію.

Таблиця 1 – Показники ПОЛ та стану антиоксидної системи в щурів із посткастраційним синдромом, яким інтравагінально вводили овестин та флуренізид ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Інтактні тварини	Тварини після екстирпації матки з додатками					Тварини, яким вводили овестин та флуренізид		
		1 доба	7 доба	20 доба	30 доба	45 доба	20 доба	30 доба	45 доба
Дієнові кон'югати, ммоль/л	11,22±0,79	22,29±0,88*	18,49±0,96*	15,24±1,09*	14,52±0,93*	14,41±0,81*	14,85±0,91	11,97±0,74**	11,66±0,59**
Гідроперекиси ліпідів, ум. од./мл	1,83±0,12	3,57±0,19*	2,98±0,16*	2,71±0,11*	2,41±0,15*	2,37±0,15	2,61±0,11	1,99±0,12**	1,92±0,11**
ТБК-активні продукти, ммоль/л	2,19±0,11	3,96±0,13*	3,48±0,13*	2,99±0,17*	2,88±0,20*	2,58±0,19	2,74±0,14	2,39±0,08**	2,21±0,11
СОД, ум. од./мг білка	6,55±0,22	7,33±0,39	3,79±0,24*	4,71±0,18*	5,13±0,21*	5,69±0,21*	5,09±0,26	5,31±0,24	6,53±0,21**
КТ, мкат/л	5,87±0,42	9,69±0,51*	7,79±0,69*	6,95±0,70*	6,55±0,59	6,17±0,45	7,03±0,43	6,39±0,38	6,29±0,43
ЦП, мг/л	228,3±6,8	319,7±10,3	152,7±9,0*	155,9±11,8*	161,9±12,7*	181,5±9,7*	169,5±9,8	173,3±10,7	223,2±11,6**
GSH, ммоль/л	2,19±0,12	2,23±0,08	1,43±0,07*	1,60±0,10*	1,84±0,09*	1,86±0,11	1,68±0,08	2,02±0,12	2,11±0,08

Примітка. * – різниця достовірна, порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,05$);

** – різниця достовірна, порівняно з контрольними тваринами ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. 1. Інтравагінальне застосування овестину не призводить до змін у системі ПОЛ/АОС у тварин з посткастраційним синдромом, зумовленим оперативним видаленням матки та придатків.

2. Поєднане введення овестину та флуренизиду супроводжується зниженням концентрації продуктів ліпопероксидації та частковою нормалізацією активності ферментів антиоксидного захисту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 41-46.
2. Балан В.Е., Муравьева В.В., Сметник В.П. Урогенитальные расстройства в климактерии // Пробл. репродукции. – 1996. – № 3. – С. 50-54.
3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
4. Галникіна С.О., Белінська Л.А., Маланчук Л.М. Біохімічні зміни при менопаузі в жінок // Мед. хім. – 2000. – 2, № 1. – С. 9-11.
5. Галникіна С.О., Белінська Л.А. Особливості перекисного окиснення ліпідів та показники антиоксидного захисту у жінок із посткастраційним синд-

- ромом // Мед. хімія. – 2001. – 3, № 4. – С. 63-65.
6. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1986. – 312 с.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова Н.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
8. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 280 с.
9. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод ее определения в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.
10. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl group // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 83. – P. 70-77.

ВЛИЯНИЕ ОВЕСТИНА И ФЛУРЕНИЗИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ПОСТКАСТРАЦИОННОМ СИНДРОМЕ

С.А. Галныкіна

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

У животных с посткастрационным синдромом, обусловленным хирургическим удалением матки и придатков, исследовали активность процессов липопероксидации и состояние антиоксидной системы при местном применении овестина и флуренизида. Установлено, что введение овестина не приводит к существенным изменениям в системе ПОЛ/АОС. Использование флуренизида сопровождается снижением интенсивности процессов перекисления липидов и активацией системы антиоксидной защиты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **посткастрационный синдром, перекисное окисление липидов, антиоксидная система, коррекция, овестин, флуренизид.**

THE INFLUENCE OF OVESTIN AND FLURENIZID ON LIPOPEROXIDATION INDICES AND ANTIOXIDANT SYSTEM AFTER SURGICAL MENOPAUSE

S.O. Halnykina

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

In animals with surgical menopause after total hysterectomy the activity of lipoperoxidation processes and antioxydant system after local application of ovestin and flurenizid was investigated. The introduction of ovestin doesn't lead to significant changes in lipid peroxidation and antioxydant system. Using of flurenizid is accompanied by decreasing of lipoperoxidation processes and activation of antioxydant protective system.

KEY WORDS: **surgical menopause, lipid peroxidation, antioxidant system, correction, ovestine, flurenizid.**

Отримано 28.05.2002 р.

Адреса для листування: С.О. Галникіна, кафедра дерматовенерології, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

Д-(+)-ГЛЮКОЗИЛАМОНІЄВІ СОЛІ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ, ЇХ СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

О.О. Павлій, Л.В. Брунь, С.Г. Ісаєв, І.А. Зупанець
НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Карбоксизаміщені N-фенілантранілових кислот синтезовано за модифікованою реакцією Ульмана у твердій фазі, на їх основі потім отримано Д-(+)-глюкозиламонієві солі. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ІЧ-, ПМР-спектрів. Чистота контролювалась методом тонкошарової хроматографії. Показано, що введення Д-(+)-глюкозаміну в структуру N-фенілантранілових кислот призводить як до підвищення протизапальної активності сполук, так і до зниження їх токсичності.

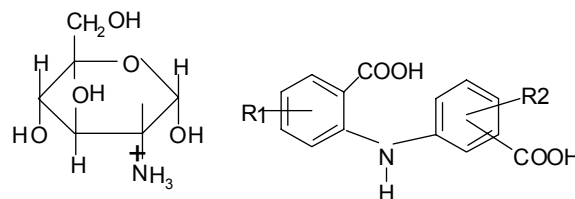
КЛЮЧОВІ СЛОВА: N-фенілантранілові кислоти, Д-(+)-глюкозамін, фармакологічна активність.

ВСТУП. N-фенілантранілові кислоти, крім значної фармакологічної активності, виявляють також високу реакційну здатність, зумовлену особливостями їх молекулярної будови. Наявність в ортоположенні карбоксильної та NH-груп дає можливість одержувати різноманітні похідні (естери [2], аміди [4], солі [3], гідразиди [5] та металокомплекси [1]), серед яких вже виявлено сполуки з високою біологічною активністю. Проведені раніше дослідження [3, 4] показали, що глюкозамін сприяє зниженню гострої токсичності та одночасно – підвищенню антиексудативної активності. Грунтуючись на вищенаведеному, як об'єкт досліджень було обрано Д-(+)-глюкозиламонієві солі N-фенілантранілових кислот.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. N-фенілантранілові кислоти синтезовано за модифікованою реакцією Ульмана [8], на їх основі потім отримано Д-(+)-глюкозиламонієві солі згідно з методикою [3]. Кристалізація солей (рис. 1) проходить на холоді протягом 10-12 год. Через наявність у структурі солей цукрового компонента їм притаманні якісні реакції з Фелінговою рідиною та аміачним розчином нітрату срібла. Для підтвердження будови та індивідуальності солей також використовувалися дані елементного, ІЧ-, ПМР-спектрального та хроматографічного аналізів. Дані елементного аналізу відповідали розрахованим. Катіонно-аніонний характер одержаних речовин підтверджено наявністю в ІЧ-спектрах смуг

© О.О. Павлій, Л.В. Брунь, С.Г. Ісаєв – к.фарм.н., І.А. Зупанець – д.м.н., проф., 2002.

поглинання в ділянці 1672-1645 cm^{-1} ($\nu^{\text{as}}_{\text{COO}^-}$), 1380-1330 cm^{-1} ($\nu^{\text{s}}_{\text{COO}^-}$) і 2975-2940 cm^{-1} ($\nu_{\text{N}^+\text{H}_3}$).



- I – $\text{R}^1=4\text{-NO}_2$; $\text{R}^2=3^1\text{-COOH}$
- II – $\text{R}^1=5\text{-NO}_2$; $\text{R}^2=2^1\text{-COOH}$
- III – $\text{R}^1=6\text{-NO}_2$; $\text{R}^2=2^1\text{-COOH}$
- IV – $\text{R}^1=6\text{-NO}_2$; $\text{R}^2=3^1\text{-COOH}$
- V – $\text{R}^1=6\text{-NO}_2$; $\text{R}^2=4^1\text{-COOH}$
- VI – $\text{R}^1=3,5\text{-Br}$; $\text{R}^2=2^1\text{-COOH}$
- VII – $\text{R}^1=5\text{-Br}$; $\text{R}^2=4^1\text{-COOH}$
- VIII – $\text{R}^1=3,5\text{-Cl}$; $\text{R}^2=2^1\text{-COOH}$
- IX – $\text{R}^1=3,5\text{-Cl}$; $\text{R}^2=3^1\text{-COOH}$
- X – $\text{R}^1=3,5\text{-Cl}$; $\text{R}^2=4^1\text{-COOH}$
- XI – $\text{R}^1=3,5\text{-Cl}$; $\text{R}^2=2^1\text{-COOH}$
- XII – $\text{R}^1=3,5\text{-NO}_2$; $\text{R}^2=3^1\text{-COOH}$
- XIII – $\text{R}^1=3,5\text{-NO}_2$; $\text{R}^2=4^1\text{-COOH}$

Рис. 1. Д-(+)-глюкозиламонієві солі N-фенілантранілових кислот.

Для виявлення антиексудативної активності Д-(+)-глюкозиламонієвих солей N-фенілантранілових кислот (I-X) досліджували їх здатність пригнічувати розвиток набряку при гострому запаленні, викликаному субплантарним введенням 1 % розчину карагеніну в лапку миші [7]. Досліджувані сполуки вводили перорально у дозі 20 мг/кг маси тіла тварин. Референс-препаратами були вольтарен та мефенамова кислота.

Дослідження бактеріостатичної активності відносно золотистого стафілокока, сінної, кишкової, синьогнійної паличок та мікроорганізмів роду *Salmonella* проводили "in vitro" за методикою двократних серійних розведень у рідкому живильному середовищі [9]. Вивчення бактеріостатичної дії проводили порівняно з етакридину лактатом.

Гостру токсичність синтезованих речовин вивчали на білих мишах обох статей при внутрішньошлунковому введенні [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Фармакологічний скринінг на протизапальну активність виявив, що Д-(+)-глюкозиламонієві солі кислот мають антиексудативну дію на рівні вольтарену (I, IV, XI-XIII). На підставі аналізу досліджень, проведених раніше [3, 4], зрозуміло, що введення в структуру N-фенілантранілових кислот Д-(+)-глюкозаміну підвищує розчинність і біодоступність речовин. При цьому збільшується значення протизапальної активності та значно зменшується гостра токсичність солей, порівняно з кислотами. За класифікацією К.К. Сидорова, сполуки VIII-XIII належать до малотоксичних речовин при внутрішньошлун-

ковому введенні, їх $DL_{50} > 4000$ мг/кг (табл. 1). Протизапальна активність похідних N-фенілантранілових кислот тісно пов'язана з будовою, тому за антиоксидним ефектом вони розташовуються в такий ряд: глюкозаміди>глюкозиламонієві солі>калієві солі>металокомплекси=кислоти>метиллові ефіри.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що Д-(+)-глюкозиламонієві солі N-фенілантранілових кислот відносно грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів виявляють слабку бактеріостатичну дію (табл. 1).

ВИСНОВКИ. 1. У результаті взаємодії Д-(+)-глюкозаміну з N-фенілантраніловими кислотами здійснено синтез водорозчинних солей, їх будову й індивідуальність підтверджено сучасними фізико-хімічними методами аналізу.

2. Виявлено закономірності зв'язку "структура-протизапальна активність-токсичність" серед похідних N-фенілантранілових кислот. Введення в структуру N-фенілантранілових кислот другої карбоксильної групи та катіонно-зв'язаного Д-(+)-глюкозаміну сприяє підвищенню активності та зниженню токсичності.

Таблиця 1 – Біологічна активність та гостра токсичність Д-(+)-глюкозиламонієвих солей N-фенілантранілових кислот

Сполука	Протизапальна активність у дозі			DL ₅₀ , мг/кг (внутрішньошлунково)	Бактеріостатична активність, МПК (мкг/мл)							
	20 мг/кг	DE ₂₀ , мг/кг	DE ₅₀ , мг/кг		Staphylococcus aureus	Bacillus subtilis	Eshrichia coli	Pseudomonas aurugiosa	Salmoela choeasuis	Salmoela dublin	Salmonela typhimurium	Salmonela typhisuis
I	21,89%	-	-	-	250	500	125	500	250	500	500	500
II	42,18%	-	-	-	250	500	125	1000	500	500	1000	500
III	23,18%	-	-	-	250	500	125	1000	500	500	1000	1000
IV	5,33%	-	-	-	500	1000	250	500	250	250	500	250
V	9,68%	-	-	-	500	1000	250	500	250	500	1000	250
VI	42,60%	-	-	-	500	500	125	500	250	250	1000	500
VII	28,92%	-	-	-	500	500	125	250	250	250	250	250
VIII	-	32,8	-	4840 (3930-5740)	250	500	125	500	250	500	500	500
IX	-	36,4	-	4650 (3850-5460)	250	500	125	500	250	500	500	500
X	-	-	22,4	4650 (3850-5460)	125	500	125	500	250	125	125	250
XI	39,2%	-	-	>4000	125	500	125	500	250	125	250	125
XII	43,6%	-	-	>4000	125	500	62,5	125	125	125	250	250
XII	32,1%	-	-	>4000	62,5	500	62,5	125	125	125	250	250
Вольтарен	37,5% (DE ₅₀ =8 мг/кг)			350 (311-394)	-	-	-	-	-	-	-	-
Мефенамова кислота	30,0-3,2 (у дозі 100 мг/кг)			620	-	-	-	-	-	-	-	-
Етакридину лактат	-			21 (внутрішньо-черевно)	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	125

ЛІТЕРАТУРА

1. Бризицький О.А., Свечнікова О.М., Ісаєв С.Г. та ін. Дослідження біологічної дії металокомплексів нітрозаміщених N-фенілантранілових кислот // Мед. хімія. – 3, № 4. – С. 44-47.
2. Ісаєв С.Г., Алексеева Т.В., Марусенко Н.А. и др. Синтез, строение и биологическая активность метиловых эфиров замещенных N-фенилантраниловой кислоты // Лекарства – человеку. – 2001. – 14, № 1. – С. 128-134.
3. Ісаєв С.Г., Зупанець І.А., Павлій О.І. Синтез, будова та біологічна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3,5-дихлор-N-фенілантранілових кислот // Фармац. журн. – 2001. – № 2. – С. 53-57.
4. Ісаєв С.Г., Павлій О.І., Зупанець І.А. та ін. Синтез, будова та протизапальна активність D-(+)-глюкозамідів 3-нітро-N-фенілантранілових кислот // Фармац. журн. – 2001. – № 1. – С. 86-89.
5. Ісаєв С.Г., Яременко В.Д., Садова Л.Д., Долгарева Е.А. Получение, физико-химические свойства и биологическая активность гидразидов 3-нитро-N-фенилантраниловых кислот и 5-нитро-9-N-ариламинопроизводных акридина // Лекарства – человеку. – 2000. – 12, № 1. – С. 59-64.
6. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А., Пилипенко Ю.А. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ // Гигиена и санитария. – 1985. – № 6. – С. 46-48.
7. Пат. 32990А Україна, МПК С07Д 63/08, С07Н 13/02. Глюкозиламонієві солі заміщених 3-N-фенілантранілової кислоти, що проявляють протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність / І.А. Зупанець, С.Г. Ісаєв, В.Д. Яременко та ін. (Україна). Заявл. 29.09.98. Опубл. 15.02.2001. Бюл. № 1. – 3 с.
8. Пат. 33114 А Україна, МПК С07С 205/06, С07С 229/58. Спосіб одержання заміщених 3-,4-,5-, 6-нітро-2-N- фенілантранілових кислот / Ісаєв С.Г., Павлій О.І., Зупанець І.А. та ін. (Україна). – Заявл. 01.12.98; Опубл. 19.02.2001, Бюл. № 1. – 3 с.
9. Яковлева Л.В., Зупанець І.А. Использование модели каррагенинового отека у мишей при поиске противовоспалительных средств. – Х., 1987. – 6 с. – Деп. в Укр. НИИТИ 07.07.87, № 1908 – Ук-87.

D-(+)-ГЛЮКОЗИЛАММОНИЕВЫЕ СОЛИ N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ, ИХ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

О.А. Павлий, Л.В. Брунь, С.Г. Ісаєв, І.А. Зупанець
НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Карбоксизамещенные N-фенилантраниловых кислот синтезированы по модифицированной реакции Ульмана в твердой фазе, на их основе получены D-(+)-глюкозиламмониевые соли. Строение синтезированных веществ подтверждено данными элементного анализа и ИК-, ПМР-спектров. Чистота контролировалась методом тонкослойной хроматографии. Показано, что введение D-(+)-глюкозамина в структуру N-фенилантраниловых кислот приводит к повышению противовоспалительной активности соединений и к снижению их токсичности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: N-фенилантраниловые кислоты, D-(+)-глюкозамин, фармакологическая активность.

D-(+)-GLUCOZILAMONII SALTS OF N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS, THEIR SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY

O.O. Pavliiy, L.V. Brun, S.G. Isayev, I.A. Zupanets
NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

Carboxysubstitutes of N-phenylanthranilic acids are synthesized by Ulman modified reaction in a solid phase and on their basis D-(+)-glucozilamonii salts are later obtained. The structure of synthesized compounds has been confirmed by data of ultimate and IR-, PMR-spectra. The purity has been tested by the method of thin-layer chromatography. It was established that introduction of D-(+)-glucosamine into the structure of N-phenylanthranilic acids increases the antiinflammatory activity and reduces the toxicity.

KEY WORDS: N-phenylanthranilic acids, D-(+)-glucosamine, pharmacological activity.

Отримано 27.05.2002 р.

Адреса для листування: С.Г. Ісаєв, вул. Гарібальді, 11-А, кв. 21, Харків, 61142, Україна.

ЗМІНИ ДІЯЛЬНОСТІ НИРОК І ГЕМОСТАЗУ ЗА НЕОНАТАЛЬНОЇ ЛАКТОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ЩУРЕНЯТ ХЛОРИСТИМИ СПОЛУКАМИ ТАЛІЮ, КАДМІЮ І СВИНЦЮ

В.І. Швець

БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

З першої доби після народження потомства три групи самок білих щурів отримували малі дози хлористих сполук свинцю, кадмію і талію відповідно. Контрольна група перебувала на стандартному раціоні виварію. Через три тижні щуренят було проведено водне навантаження. У крові досліджено вміст натрію, калію, креатиніну, в сечі – електrolітів, креатиніну і білка. Установлено залежність функціонального стану нирок і гемостазу від типу хімічного навантаження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **важкі метали, новонароджені, нирки, гемостаз.**

ВСТУП. Відомо, що ранній неонатальний період характеризується особливим напруженням гомеостатичних регуляторних систем, що остаточно не сформувалися, функціональний стан яких визначає реактивність організму. Нестача ендокринних регуляторних факторів компенсується такими, що надходять до організму дитини з молоком матері [6]. У несприятливих екологічних умовах материнське молоко може бути джерелом ксенобіотиків через трансмамарний шлях передачі політантів.

Метою нашої роботи було з'ясувати вплив лактогенного перенесення важких металів (хлористих сполук талію, кадмію і свинцю) на функцію нирок і гемостаз у потомства самок білих щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 12 самках білих щурів та їх потомстві (42 щуренят віком 21 день). У перший день після народження щуренят самки з потомством були поділені на 3 експериментальні групи. Дві самки з щуренятами склали групу контролю і перебували на стандартному раціоні харчування. Перша дослідна група самок у період лактації щоденно внутрішньошлунково отримувала талію хлорид у дозі 0,01 мг/кг, друга група – свинцю хлорид у дозі 0,1 мг/кг, третя група – кадмію хлорид у дозі 0,005 мг/кг маси тіла. У роботі використано дози важких металів, що не викликають ушкодження нирок і змін гемостазу в невагітних самок білих щурів [4].

На 21 день життя всім щуренят було проведено водне навантаження в об'ємі 5 %

© В.І. Швець, 2002.

від маси тіла з урахуванням двогодинного діурезу. Щуренят забивали під легким ефірним наркозом методом декапітації. У пробах сечі та плазми крові визначали концентрацію креатиніну за реакцією з пікриновою кислотою. Концентрацію білка в сечі досліджували сульфосаліциловим методом. Вміст натрію й калію в сечі і плазмі крові визначали методом фотометрії полум'я на "ФПЛ-1" (Росія).

Стан тромбо-цитарно-судинного гемостазу аналізували за відсотком адгезивних тромбоцитів та індексом їх спонтанної агрегації [5]. Загальний коагуляційний потенціал крові (час рекальцифікації плазми, протромбіновий і тромбіновий час, активований парціальний тромбoplastиновий час), фібринолітичну активність плазми, Хагеман-залежний фібриноліз, рівень фібриногену в плазмі крові й активність антитромбіну III визначали за допомогою наборів реактивів фірми "Simko Ltd" (Україна). Вміст у крові 6-кето-ПГФ_{1α} і тромбоксану В₂ визначали, застосовуючи набір реактивів фірми "Amersham" (Велика Британія). Екстракцію ейкозаноїдів проводили етилацетатом на мікроколонках С₈ "Amprep™" (Велика Британія).

Статистичну обробку отриманих даних виконано з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження функціонального стану нирок наведено в таблиці 1. Реакція на водне навантаження в потомства самок, які отримували хлористі сполуки важких металів, у цілому була однотипною: рівень діурезу знижувався за рахунок зменшення швидкості клубочкової

фільтрації, що призводило до збільшення концентрації креатиніну в плазмі крові й супроводжувалося пригніченням проксимального транспорту іонів натрію та протеїнуриєю. Максимальними ці зміни були в групі щуренят, матері яких отримували кадмію хлорид. У них же спостерігалися найбільш виражені зміни параметрів системи гемостазу (табл. 2). Загальний потенціал гемокоагуляції характеризувався скороченням часу рекальцифікації плазми крові, активованого парціального тромбoplastинового, протромбінового і тромбінового часу. При цьому протизгортальний потенціал крові значно зменшувався. Спостерігалось зниження сумарної фібринолітичної активності плазми крові, причому виключно за рахунок ферментативного фібринолізу, оскільки інтенсивність неензиматичного лізису фібрину зростала. Пригнічення плазматичного ферментативного фібринолізу поєднувалося зі зниженням Хагеман-залежного лізису фібрину, що відбувалося при зменшенні концентрації фібриногену в плазмі крові. Заслуговує на увагу факт значної активації тромбоцитарної ланки пер-

винного гемостазу: в потомства самок щурів, які під час лактації отримували кадмію хлорид, відсоток адгезивних тромбоцитів та індекс їх спонтанної агрегації були суттєво вищими, ніж у щуренят контрольної групи. Механізм підвищення функціональної активності тромбоцитів полягав у змінах ейкозаноїдної регуляції первинного гемостазу: спостерігалось зниження концентрації в плазмі крові 6-кето-ПГF_{1 α} , тоді як плазматичний рівень тромбоксану B₂ не змінювався, внаслідок чого коефіцієнт їх співвідношення значно зменшувався.

Ураховуючи, що важкі метали в токсичних дозах викликають у дорослих щурів подібні зміни функції нирок [7], слід вважати, що в цьому випадку відбувається лактогенне перенесення ксенобіотиків. Окрім того, результати нашого дослідження свідчать про високу чутливість системи гемостазу новонароджених до трансмамарного навантаження хлористими сполуками важких металів, що призводить до гіперкоагуляційного стану і може викликати суттєві порушення мікроциркуляції та функції внутрішніх органів, зокрема нирок [1, 2, 3].

Таблиця 1 – Характеристика функції нирок у щуренят, матері яких під час лактації зазнавали інтоксикації хлористими сполуками важких металів (x±Sx)

Вид інтоксикації	Діурез, мл/2 год	Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	Швидкість клубочкової фільтрації, мкл /хв	Проксимальний транспорт іонів натрію, мкмоль/хв	Екскреція білка, мг/2 год
Контроль, n=20	3,72±0,18	63,44±3,16	341,22±12,88	11,96±0,50	0,05±0,01
Талію хлорид, n=14	2,19±0,21 p<0,001	82,86±6,70 p<0,01	187,56±19,45 p<0,001	8,30±0,41 p<0,001	0,34±0,03 p<0,001
Кадмію хлорид, n=15	1,70±0,19 p<0,001	95,19±4,67 p<0,001	145,11±24,60 p<0,001	6,85±0,24 p<0,001	0,79±0,08 p<0,001
Свинцю хлорид, n=13	2,13±0,22 p<0,001	84,91±5,25 p<0,001	184,32±20,72 p<0,001	8,44±0,33 p<0,001	0,42±0,04 p<0,001

Примітка. p – ступінь достовірності різниці показників відносно контролю; n – кількість спостережень.

Таблиця 2 – Характеристика загального потенціалу гемокоагуляції в щуренят, матері яких під час лактації зазнавали інтоксикації хлористим кадмієм (x±Sx)

Показники	Контроль, n=20	Дослід, n=15
Час рекальцифікації, с	112,52±4,96	80,47±3,92*
Активований парціальний тромбoplastиновий час, с	40,18±1,76	32,15±1,56*
Протромбіновий час, с	22,58±0,84	18,02±0,61*
Тромбіновий час, с	16,83±0,91	11,24±0,48*
Активність антитромбіну III, %	92,75±3,06	79,60±2,45*
Сумарний фібриноліз, мкг азофібрину/мл·год	6,51±0,28	3,50±0,20*
Неферментативний фібриноліз, мкг азофібрину/мл·год	0,66±0,04	1,34±0,08*
Ферментативний фібриноліз, мкг азофібрину/мл·год	5,85±0,27	2,16±0,12*
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	15,70±0,64	18,71±0,86*
Фібриноген, г/л	2,55±0,08	2,11±0,13*
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	53,11±2,00	73,44±5,36*
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	5,93±0,29	12,85±0,94*
Концентрація в плазмі крові 6-кето-ПГP _{1α} , нг/л	250,13±9,76	184,36±10,45*
Концентрація в плазмі крові тромбоксану B ₂ , нг/л	241,50±10,18	247,58±12,72
Коефіцієнт співвідношення 6-кето-ПГF _{1α} /тромбоксан B ₂	1,04±0,05	0,74±0,04*

Примітка. * – зміни достовірні, порівняно з контролем; n – кількість спостережень.

ВИСНОВКИ. 1. Порушення функції нирок у щуренят, матері яких під час лактації зазнавали інтоксикації хлористими сполуками важких металів, є типовими для токсичних нефропатій і свідчать про трансмамарне перенесення іонів талію, кадмію і свинцю.

2. У потомства самок щурів, які під час лактації отримували малі дози хлористих сполук кадмію, талію і свинцю, відбувається

первинна активація тромбоцитарно-судинного гемостазу. Зміни коагуляційного гемостазу характеризуються хронометричною гіперкоагуляцією.

3. У щуренят, матері яких під час лактації зазнавали впливу малих доз хлористих сполук кадмію, талію і свинцю, значно знижується активність протизгортальної і ферментативної фібринолітичної систем плазми крові.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балуда В.П. Физиология системы гемостаза. – М.: Медицина, 1995. – 293 с.

2. Бокарев И.Н. ДВС-синдром, современные представления // Клин. мед. – 1992. – **70**, № 2. – С. 109-113.

3. Грицюк А.И., Амосова Е.Н., Грицюк И.А. Практическая гемостазиология. – К.: Здоров'я, 1994. – 256 с.

4. Кухарчук О.Л., Магальяс В.М., Чала К.М. Загальні механізми нефротоксичної дії важких металів // Навколишнє середовище і здоров'я: Матер. наук.-практ. конф. – Чернівці, 1993. – С. 35-36.

5. Мищенко В.П., Крохмаль Н.В., Надутый К.А. Простой метод определения адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов // Физиол. журн. – 1980. – **26**, № 2. – С. 282-283.

6. Павлюк В.П. Нейроэндокринные механизмы адаптации недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – К., 1990. – 45 с.

7. Чала К.М., Кухарчук О.Л. До питання про механізми ушкодження нирок при талотоксикозі // Актуальні питання морфогенезу: Матер. наук.-практ. конф. – Чернівці, 1996. – С. 362-263.

ИЗМЕНЕНИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПОЧЕК И ГЕМОСТАЗА ПРИ ЛАКТОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ КРЫСЯТ ХЛОРИСТЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ ТАЛЛИЯ, КАДМИЯ И СВИНЦА

В.И. Швець

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

С первого дня после рождения потомства три группы самок белых крыс получали малые дозы хлористых соединений свинца, кадмия или таллия соответственно. Контрольная группа находилась на стандартном суточном рационе вивария. Через три недели крысятам было проведено водную нагрузку. В крови исследовано содержание натрия, калия, креатинина, в моче – электролитов, креатинина и белка. Установлено зависимость функционального состояния почек и гемостаза от типа химической нагрузки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **тяжелые металлы, новорожденные, почки, гемостаз.**

CHANGES OF KIDNEYS' FUNCTION AND HEMOSTASIS AT LACTOGENIC INTOXICATION OF NEWBORN RATS WITH CHLOROUS COMPOUNDS OF THALLIUM, CADMIUM AND PLUMBUM

V.I. Shvets

BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

From the first day after birth of the young, three groups of white rats females were injected by small doses of plumbum, thallium and cadmium chlorous compounds. The control group was given usual daily diet. In three weeks the young females were exposed to water load. It was investigated the natrium, potassium, creatinine content of their blood, electrolytes, creatinine and protein content of their urina. The dependence of functional renal status and hemostasis of young rats on the type of chemical load was obvious.

KEY WORDS: **heavy metals, newborns, kidneys, hemostasis.**

Отримано 14.02.2002 р.

Адреса для листування: В.І. Швець, кафедра нормальної фізіології, Буковинська державна академія, вул. Чапаєва, 43А/48, Чернівці, 58022, Україна.

ЗМІНИ ВМІСТУ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ ПІСЛЯ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З ПУХЛИНАМИ ЯЄЧНИКІВ

О.І. Темченко

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Визначено зміни вмісту молекул середньої маси у 88 хворих з пухлинами яєчників. Доведено підвищення їх рівня. Такі зміни посилюються після застосування спеціальних методів лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пухлини яєчників, молекули середньої маси, хірургічне лікування.

ВСТУП. У наш час захворюваність і смертність від злоякісних пухлин жіночих статевих органів мають тенденцію до зростання, причому рак яєчників залишається одним із найпоширеніших злоякісних процесів. Безсимптомність ранніх стадій раку яєчників призводить до того, що ці пухлини діагностуються в поширених стадіях майже в 70 % випадків [1]. У зв'язку з цим, важливою проблемою є рання діагностика та лікування початкових стадій захворювання [4].

В плані діагностики пухлин яєчників серйозної уваги заслуговує визначення ступеня інтоксикації, зокрема за рівнем молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові. Циркуючи в крові, вони можуть ушкоджувати різні органи і системи. Збільшення вмісту МСМ в сироватці крові виявлено при багатьох захворюваннях [3].

Метою нашого дослідження було визначити рівень МСМ в сироватці крові хворих з пухлинами яєчників до і після комбінованого лікування.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 25 практично здорових жінок і 88 хворих з пухлинами яєчників, з них у 29 були доброякісні пухлини яєчників, у 31 – рак I стадії, у 28 – рак II стадії. Діагноз епітеліальних пухлин підтверджено у всіх випадках.

Усім жінкам з доброякісними пухлинами яєчників проводили хірургічне лікування (залежно від віку – однобічну аднексектомію чи надпівову ампутацію матки з придатками), а хворим на рак, крім хірургічного лікування (надпівової ампутації чи екстирпації матки з придатками та резекції сальника), – ще й курс

поліхіміотерапії (ПХТ). ПХТ проводили за схемою: метотрексат (4-60 мг/м² внутрішньовенно в 1-й та 8-й дні) + 5-фторурацил (0,8-1,0 г/м² внутрішньовенно в 1-й та 8-й дні) + циклофосфан (1,5-2,0 г/м² внутрішньовенно щоденно впродовж 14 діб).

Рівень МСМ визначали в сироватці крові, взятої з ліктьової вени, скринінговим методом [2] у всіх хворих до і через 7-8 днів після хірургічного втручання. Кількість цих продуктів виражали в одиницях, які дорівнюють показникам екстинкції при довжині хвиль 254 та 280 нм спектрофотометра.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Лікування 29 хворих з доброякісними пухлинами яєчників здійснювали за загальноприйнятими принципами. У репродуктивному віці при наявності однобічного ураження яєчників та відсутності неопластичних процесів в ендометрії, матці та її шийці проводили однобічну аднексектомію. Усім іншим хворим хірургічне втручання виконували в більш радикальному об'ємі.

У хворих з доброякісними пухлинами не зареєстровано відхилень з боку показників традиційних лабораторних обстежень як у доопераційний період, так і через 7-8 днів після хірургічного втручання. У доопераційний період відмічено тенденцію до підвищення рівня МСМ у сироватці крові: при довжині хвилі 254 нм – до (328±32) од. екст., а при 280 нм – до (362±26) од. екст. (p<0,05). На 7-8 день після оперативного втручання цей показник інтоксикації збільшувався, відповідно, до (396±18) і (431±21) од. екст. (p<0,01).

У хворих на рак яєчників I стадії рівень МСМ виявився вищим і досягав, відповідно, (366±21)

та (382±22) од. екст. ($p < 0,05$). Лікування їх проводили за схемою: операція + ПХТ. Оперативне втручання виконували в об'ємі надпівкової ампутації чи екстирпації матки з додатками та резекції сальника. Після лікування вміст МСМ в сироватці крові підвищився до (417±23) од. екст. при довжині хвилі 254 нм та (441±24) од. екст. при довжині хвилі 280 нм ($p < 0,05$).

Високим рівень МСМ виявився у хворих на рак яєчників II стадії: при довжині хвилі 254 нм – (387±22), при 280 нм – (431±24) од. екст. Хірургічне втручання виконували в об'ємі надпівкової ампутації матки з придатками чи екстирпації матки з придатками, доповненої оментектомією. Після лікування вміст МСМ у

сироватці крові зростав до (478±31) та (499±21) од. екст. відповідно при 254 та 280 нм ($p < 0,05$).

ВИСНОВОК. Токсичність сироватки крові (за МСМ) у хворих з пухлинами яєчників вища, ніж у здорових жінок, особливо у хворих на рак яєчників. Під впливом хірургічного лікування у хворих з доброякісними пухлинами яєчників, тим більше у хворих на рак яєчників вона не зменшується, а зростає. У зв'язку з цим, слід вважати за необхідне в програмі підготовки до хірургічного втручання і в післяопераційний період використовувати лікарські препарати, що здатні зменшувати ендотоксикоз, зокрема ентеросорбенти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Воробьева Л.И. Организация онкогинекологической помощи в Украине // Рак в Україні: епідеміологічні та організаційні аспекти проблеми: Матеріали науково-практ. конф. – К., 1997. – С. 91-92.
2. Николайчик В.В., Моин В.М., Кирковский В.В. Способ определения “средних молекул” // Лаб.

дело. – 1991. – № 10. – С. 13-18.

3. Темченко О. І. Корекція порушень імунітету та показників інтоксикації кремнієвим сорбентом в комбінованому лікуванні раку яєчників 3-4 стадій: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1996. – 25 с.

4. Hulka J. F., Reich H. Textbook of laparoscopy. – W. B. Saunders Company, 1998. – 441 p.

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ ЯИЧНИКОВ

О.И. Темченко

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Определены изменения содержания молекул средней массы у 88 больных опухолями яичников. Доказано повышение их уровня. Такие изменения усиливаются после применения специальных методов лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: опухоли яичников, молекулы средней массы, хирургическое лечение.

CHANGES OF MEDIUM-MASS MOLECULES CONTENTS AFTER SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH OVARIAN TUMOURS

O.I. Temchenko

TERNOPIIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Changes of contents of medium-mass molecules were determined in 88 patients with ovarian tumours. It was proved the increase at their level. Such changes are strengthened after the usage of special methods of treatment.

KEY WORDS: ovarian tumours, medium-mass molecules, surgical treatment.

Отримано 03.07.2002 р.

Адреса для листування: О.І. Темченко, кафедра акушерства та гінекології № 2, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ РОСЛИННИХ ЕЛАГОТАНІНІВ

Т.С. Сахарова, Л.В. Яковлева

НАЦІОНАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

На модельних системах, у яких відтворено явища перекисної руйнації плазматичної та мікросомальної мембран, визначено мембранопротекторні властивості альтану та елагової кислоти – препаратів на основі рослинних елаготанінів. Встановлено, що за виразністю мембранозахисної дії препарати дубильних речовин, насамперед альтан, перевершують відомі біофлавоноїдні препарати кверцетин та силібор.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мембранопротекторна дія, рослинні елаготаніни, біофлавоноїди.

ВСТУП. Відомо, що за умови патологічної інтенсифікації вільнорадикальних процесів у організмі первинним субстратом перекисної руйнації є ненасичені жирні кислоти фосфоліпідів [1]. Тому, незалежно від механізму дії сучасних препаратів-антиоксидантів, сумарний ефект їх оцінюється збереженням мембранного апарату. Полівалентність коригувального впливу рослинних поліфенольних сполук на процес аномального ліпопереокиснення (ПОЛ) детермінує і їх мембранозахисні властивості, які реалізує завдяки антирадикальним властивостям поліфенолів, а також шляхом безпосередньої біохімічної взаємодії з компонентами мембран [3]. У зв'язку із зазначеним, виник інтерес дослідити мембраностабілізуювальні властивості альтану та елагової кислоти – оригінальних препаратів на основі дубильних речовин – та зіставити виразність їхньої дії з біофлавоноїдними препаратами кверцетином і силібором.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Оригінальні субстанції препаратів дубильних речовин альтану й елагової кислоти вилучено із суплідь вільхи клейкої та сірої (*Alnus glutinosa* L., *Alnus cinerea* L.). Елагова кислота представлена індивідуальною сполукою, яка у природному стані є агліконом елаготанінів. Основним діючим компонентом субстанції альтану є альнітаніни – дієфіри елагової кислоти з моносахаридами.

© Т.С. Сахарова – к.фарм.н., Л.В. Яковлева – д.фарм.н., проф., 2002.

Мембранопротекторну здатність елагової кислоти й альтану, порівняно з біофлавоноїдними препаратами, вивчали на рівні як плазматичної мембрани, так і мембран субклітинних утворень (мікросомальних). Для інтегральної оцінки мембранозахисної дії препаратів використовували методіку визначення спонтанного гемолізу за [2]. Дослідження проводили на безпородних білих щурах обох статей масою 180-220 г. Тваринам дослідних груп щодня протягом 4 днів перорально вводили препарати в умовнотерапевтичних дозах: альтан та елагову кислоту – 1 мг/кг, кверцетин – 5 мг/кг, силібор – 25 мг/кг. На 4-у добу досліджень у крові дослідних щурів визначали ступінь гемолізу еритроцитів відносно аналогічного показника крові тварин контрольної групи, які отримували лише воду в зазначений термін експерименту.

Іншим скринінг-тестом дослідження мембранопротекторних властивостей альтану та елагової кислоти було обрано метод визначення активності цитохрому Р-450 (ЦХ Р-450) у мікросомах печінки [5]. Оскільки фізико-хімічні властивості й функціональна активність мембранозв'язаного ЦХ Р-450 визначаються станом ліпідного бішару мембран ендоплазматичного ретикулума, будь-яке ушкодження останніх позначатиметься інактивацією згаданого гемопротейну. Мембранну патологію моделювали в умовах аскорбат-Fe²⁺-індукованого ПОЛ мікросом печінки білих щурів у середовищі, яке містило 100 мМ тріс-НСІ

буфер (рН-7,4), 0,5 мМ аскорбат, 12 мкМ сіль Мора та 1 мг білка мікросом на 1 мл реакційного середовища. Реакція тривала протягом 3 хв та зупинялась при додаванні 15 мкМ іонолу. Визначення вмісту цитохрому Р-450 здійснювали за методом [5], вміст гемопро-теїну розраховували, використовуючи коефі-цієнт молярної екстинкції $91 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані, представлені на рисунку 1, альтан, елагова кислота та кверцетин достовірно запобігали спонтанному гемолізу еритроцитів, спричиненому молекулярним киснем. Здатність силібору до захисту мембран еритроцитів від переокиснення була найслабшою. Зіставлення протекторної ефективності досліджу-ваних препаратів дозволяє зробити висновок про більш виразні, порівняно з біофлавоної-дами, мембранозахисні властивості препаратів на основі елаготанінів та розташувати їх за порядком зменшення ефекту таким чином: альтан > елагова кислота > кверцетин > силібор.

Результати дослідження мембранозахис-них властивостей альтану й елагової кислоти, порівняно із силібором та кверцетином на моделі перекисного ушкодження мікросо-мальної мембрани наведено на рисунку 2. У діапазоні досліджених концентрацій мемб-ранопротекторна активність усіх препаратів мала дозозалежний характер і зростала з під-вищенням їхньої концентрації у реакційному середовищі. Найвиразнішу здатність до гальмування ушкодження цитохрому Р-450, як і у дослідях із спонтанним гемолізом ери-троцитів, виявив альтан. У концентраціях 1,25 та 2,5 мкг/мл даний препарат сприяв досто-вірному зростанню вмісту цитохрому Р-450, порівняно із пробами з індукованим ПОЛ, хоча й зберігалась достовірна розбіжність, порів-няно із значенням вмісту гемопро-теїну в інтакт-них мікросомах. При підвищенні концентрації альтану до 5 мкг/мл вміст цитохрому досягав меж значення інтактних мікросом. Елагова кислота та кверцетин показали подібні резуль-тати із стримування інактивації досліджуваного мікросомального ферменту в концентраціях 1,25 та 2,5 мкг/мл. Здатність кверцетину до захисту мікросомальної мембрани у кон-центрації 5 мкг/мл була дещо виразнішою, ніж у елагової кислоти, але поступалась альтану в означеній концентрації. У пробах із силібором вміст цитохрому залишався практично на рівні ушкоджених мікросом із слабкою тенденцією до підвищення при застосуванні більших кон-центрацій. Узагальнюючи отримані дані, можна

підсумувати, що препаратам дубильних речо-вин властива виразна мембранопротекторна дія, яка проявляється їхньою здатністю захища-ти мембранозв'язаний мікросомальний фер-мент цитохрому Р-450. Найвиразніші протек-торні властивості на рівні мікросомальної мембрани відзначено для альтану – препарату, який містить комплекс елаготанінів. У кон-центрації 2,5 мкг/мл його ефективність порів-нюється з ефективністю іонолу, визнаного на сьогодні стандартним антиоксидантом [4]. Беручи до уваги доведені антирадикальні властивості елаготанінів та їхній модулюючий вплив на мембранозв'язані білкові структури [4] можна стверджувати, що саме завдяки означеним механізмам забезпечуються пре-вентивний захист мембран від перекисної руйнації та підвищення її стабільності до впливу ушкоджуючих факторів.

Ступінь гемолізу еритроцитів, %

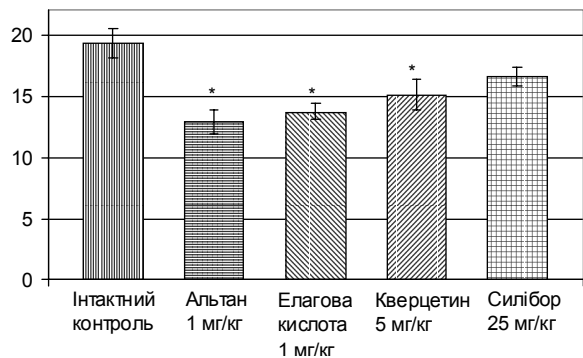


Рис. 1. Вплив досліджуваних субстанцій на ступінь гемолізу еритроцитів.

Вміст ЦХ Р-450, нмоль/мг білка

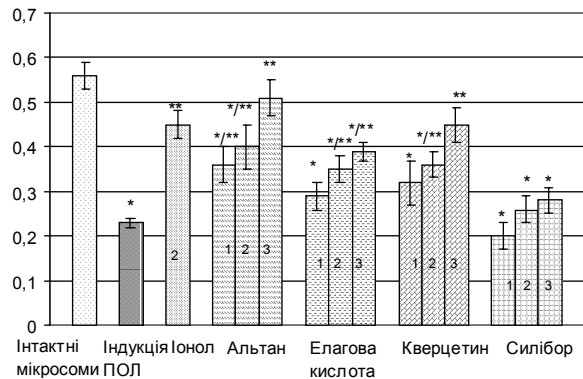


Рис. 2. Мембраностабілізуюча активність досліджуваних препаратів в умовах моделювання перекисного ушкодження мембран мікросом.

Примітка. * – відхилення достовірно відносно інтактного контролю ($p < 0,05$);

** – відхилення достовірно відносно значень проб з індукованим ПОЛ ($p < 0,05$).

1, 2, 3 – концентрація препарату відповідно 1,25, 2,5 і 5,0 мкг/мл.

ВИСНОВКИ. 1. На модельних системах, у яких відтворено явища перекисної руйнації плазматичної та мітосомальної мембран, виявлено мембранопротекторні властивості альтану та елагової кислоти – препаратів на основі рослинних елаготанінів.

2. За виразністю мембранозахисної дії препарати дубильних речовин, насамперед альтан, перевершують відомі біофлавоноїдні препарати кверцетин та силібор, що дає підставу розташувати їх за зменшенням ефекту в такому порядку: альтан>елагова кислота>кверцетин>силібор.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Peroxidation of lipids in biological membranes. – М.: Наука, 1972. – 252 с.

2. Вороніна Л.М., Десенко В. Ф., Кравченко В.М. та ін. Посібник до лабораторних і семінарських занять з біологічної хімії: Навч.-метод. посібник для вузів / Під ред. В.Ф. Десенко. – Х.: Основа, 1996. – 432 с.

3. Чекман І.С. Флавоноїди – клініко-фарма-

кологічний аспект // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 2. – С. 3-5.

4. Chung K.T., Wong T.Y., Wei C.I. et al. Tannins and human health: a review // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 1998. – № 38(6). – P. 421-464.

5. Omura T., Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties // J. Biol. Chem., 1964. – 239, № 7. – P. 2379-2385.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭЛЛАГОТАНИНОВ

Т.С. Сахарова, Л.В. Яковлева

НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

На модельных системах, воссоздающих явления перекисной деструкции плазматической и митосомальной мембран, определены мембранопротекторные свойства альтана и элаговой кислоты – препаратов на основе растительных элаготанинов. Установлено, что по выраженности мембранозащитного действия препараты дубильных веществ, прежде всего альтан, превышают известные биофлавоноидные препараты кверцетин и силібор.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мембранопротекторное действие, растительные элаготанины, биофлавоноиды.

EXPERIMENTAL STUDY OF MEMBRANOPROTECTIVE PROPERTIES OF DRUGS ON THE BASIS OF PLANT ELLAGOTANNINS

T.S. Sakcharova, L.V. Yakovleva

NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

Membranoprotective properties of altan and ellagic acid – drugs on the basis of plant ellagotannins were determined on modelling systems with rendered phenomena of peroxide destruction of cytoplasmic and microsomal membranes. It has been shown that drugs of tannic matters, first of all altan, exceed known bioflavonoid drugs quercetin and silibor by the expressiveness of membranoprotective action.

KEY WORDS: membranoprotective action, plant ellagotannins, bioflavonoids.

Отримано 26.02.2002 р.

Адреса для листування: Т.С. Сахарова, Центральна науково-дослідна лабораторія, Національна фармацевтична академія України, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

УДК 547.835:615.28.076.7(048)

ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ АКРИДИНУ І ФЕНАНТРИДИНУ

Ю.Л. Волянський, С.Л. Крестецька

ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ Й ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Велика кількість похідних акридину – відомі антимікробні агенти, дія яких ґрунтується на інактивації ДНК. Здатність до зв'язування з нуклеїновими кислотами зумовлює їх вплив на епісомальні генетичні елементи, поширені серед бактерій. Цей аспект має важливе значення, оскільки визначає активність препарату й антибіотикорезистентність бактерій до нього. В огляді визначено перспективи створення нових похідних акридину і фенантридину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протимікробні препарати, похідні акридину, похідні фенантридину, антибіотикорезистентність.

Перші спроби біологічного застосування акридинових похідних було зроблено наприкінці вісімдесятих років минулого сторіччя, тобто незабаром після відкриття акридину. Їх використання у фармакотерапії почалося через двадцять років, коли було показано наявність у ряду речовин даної групи вираженої антибактерійної та протипаразитарної дії. Профлавін (хлорид 3,6-діаміноакридину) достатньо інтенсивно застосовувався для місцевої дезінфекції ран під час Першої світової війни [35]. Синтезований Vanda (1912) хлорид 3,6-діаміно-10-метилакридину в суміші з хлоридом 3,6-діаміноакридину (акрифлавін, він же трипафлавін, або еуфлавін) одержав широке використання як місцевий антисептик й антибактерійний препарат. Великою мірою похідні акридину застосовувалися як протипаразитарні, перш за все, протималярійні засоби. Запропонований Schulerman (1931) акрихін (атебрин) користувався широкою популярністю під час Другої світової війни, коли втрата Німеччиною джерела одержання натурального хініну створила передумови для проведення широкомасштабних клінічних випробувань препарату, в ході яких було продемонстровано терапевтичні переваги атебрину над природним хініном [34].

Акрихін (2-метокси-6-хлор-9-(1-метил-4-диетиламінобутиламіно) акридину дигідрохлорид) виявився активним не тільки щодо *Pl. Falciparum*. У лікуванні малярії зараз цей пре-

парат практично не використовується, набагато ширше він застосовується в терапії шкірного лейшманіозу, як антигельмінтний засіб при цестодозах (теніїдозі, гіменолепідозі, дифілоботріозі), в терапії псоріазу і системного червоного вовчака [14, 29, 42]. Аміноакрихін застосовується при лікуванні трихомонадної інфекції та теніїдозів [29].

З похідних акридину, що продовжують широко використовуватися як місцеві антисептики, варто особливо згадати етакридину лактат (2-етокси-6,9-діаміноакридину лактат, він же риванол). Препарат малотоксичний, не має подразливого впливу на тканини, активний відносно кокової флори (особливо чутливі до його дії стрептококи) і широко використовується як зовнішній профілактичний та лікувальний антисептичний засіб у хірургії, урології, дерматології, гінекології, офтальмології, отоларингології [14].

Було вивчено та синтезовано сполуки, що володіють противірусною, антигельмінтною, фунгіцидною, протипухлинною, протизапальною, антиоксидною, гепатопротекторною, знеболювальною, нейрорепаративною, діуретичною активністю [19, 25, 27, 28]. Дослідження, спрямовані на виявлення речовин, наділених антибактерійною і антипротозойною активністю, традиційно займають найбільш помітне місце в галузі скринінгу похідних аміноакридину [4, 5, 6, 7, 13, 17, 20, 21, 25, 26, 27, 28]. Згадки про скринінг у ряду похідних фенантридину, на жаль, не настільки численні, як дані, що

стосуються похідних акридину, хоча ці речовини дуже схожі за своєю структурою (акридин і фенантридин можна уявити як варіанти дибензопіридину, що відрізняються положенням одного з бензольних кілець у гетероциклічному ядрі). Структурна подібність, очевидно, є причиною наявності ряду подібних біологічних ефектів, у тому числі антибактерійної та антипротозойної активності [41, 42], характерної, зокрема, для солей тетрагідрофенантридину, що містять високореакційну метиленову групу в положенні 10 фенантридинового ядра [40].

Таким чином, серед похідних акридину досить часто трапляються біологічно активні речовини, що на фоні більш ніж 80-літнього досвіду їх застосування і вивчення сприяло формуванню певних уявлень про механізми реалізації ефектів, у тому числі й про природу антибактерійної дії.

Було встановлено, що необхідною умовою протимікробної дії даної групи речовин є їхня катіонна іонізація не менше ніж на 50 %. На підставі цього було зроблено висновок (Albert, 1966) про те, що антимікробний вплив амінопохідних акридину базується на інактивації найважливіших аніонних компонентів мікробної клітини, як-от нуклеїнових кислот. Наступні дослідження з моделювання процесу взаємодії акридинових барвників з ДНК в умовах *in vitro* цілком підтвердили припущення Albert про тропність до ДНК даної групи сполук.

Здатністю зв'язуватися з нуклеїновими кислотами володіє також багато інших поліциклічних молекул з жорсткою планарною структурою. Взаємодія відбувається шляхом інтеркаляції, яка полягає в тому, що молекули речовини вбудовуються між суміжними парами основ подвійної спіралі. Цей процес потребує попереднього локального розкручування; водневі зв'язки між парами основ залишаються непорушеними, хоча відбувається деяке перекручування конфігурації сахарофосфатного остова, оскільки молекули, що інтеркалірують, підтримують подвійну спіраль у частково розкрученій конформації. Індикація процесу ґрунтується на реєстрації зміни ряду фізичних параметрів, які характеризують стан ДНК (в'язкість, коефіцієнт седиментації, термічна стабільність).

Деталі специфічної взаємодії агента, що інтеркалірує, з ДНК визначаються його структурними параметрами. Розрізняють два типи зв'язування барвників з ДНК: сильне первинне зв'язування і слабке вторинне. Сильне первинне зв'язування відбувається тільки з ДНК, і саме воно в основному відповідальне за здатність цих сполук порушувати синтез ну-

клеїнових кислот, викликаючи зміни, характерні для інтеркаляції. Положення інтеркальованих молекул, можливо, стабілізується в результаті електронної взаємодії між конденсованими кільцями барвника і гетероциклічними основами, що лежать вище і нижче вмонтованої молекули. Комплекс може також стабілізуватися водневими зв'язками, що утворюються між аміногрупами (наприклад, у профлавіну й етидію) і зарядженими кисневими атомами фосфатних груп сахарофосфатного остова ДНК. У хлорохіну катіонний бічний ланцюг, що виступає, можливо, утворює сольовий зв'язок з фосфатним залишком.

Дослідження в галузі вивчення можливості використання похідних акридину як протипухлинних засобів [10, 13] показали, що в багатьох випадках має місце більш-менш виражене гальмування поділу клітин пухлини. Було встановлено, що антимітотичний ефект 3,6-діамінопохідних акридину, судячи з концентраційних кривих пригнічення росту, має однотипний характер. Антимітотичний ефект акрихіну й, особливо, риванолу мав принципові відмінності, з'ясування природи яких призвело до поділу амінопохідних акридину на дві групи [9]. До першої належать 3,6-діамінопохідні акридину (профлавін, акрифлавін, корифосфін, акридиновий жовтогарячий, еухризин 2 GNX тощо). Для цих речовин характерні сильний антимітотичний ефект, що виявляється відразу ж після початку дії, деякий гальмувальний вплив на синтез нуклеїнових кислот і різкий – на синтез білків і проходження клітинами періоду G_2 мітотичного циклу. Ряд експериментальних досліджень дозволяє стверджувати, що пригнічення синтезу білків, пов'язане з взаємодією похідного акридину з тРНК (а, можливо, й рибосомною РНК), є безпосередньою причиною їхньої антимітотичної дії. Гальмування синтезу білків лежить в основі так званого "трипафлавінового антимітотичного ефекту", виявленого Dustin (1925). Є підстави вважати, що в основі протимікробної і протипухлинної дії 3,6-діамінопохідних акридину лежить саме пригнічення ними процесів білкового синтезу. Для високих концентрацій аміноакридинів, поряд із втручанням у синтез білків та нуклеїнових кислот, характерне гальмування дихальних процесів у клітині [9]. Акрихіну і риванолу, що не є 3,6-діамінопохідними акридину, також властивий антимітотичний ефект. Щодо риванолу показано, що безпосереднього впливу на синтез білків він не має і його антимітотичний ефект пов'язаний з порушенням синтезу нуклеїнових кислот. Антимітотична дія акрихіну не стабільна і важко інтепретується.

Припускають, що в основі протималарійної дії акрихіну лежить пошкодження нуклеїнових кислот *Pl. falciparum*. Разом із тим, специфічність його протималарійного ефекту, очевидно, визначається вибірковою накопиченням в еритроцитах, що, у свою чергу, пов'язано з унікальною будовою бічного ланцюга молекули акрихіну. Такрин різко відрізняється від інших амінопохідних акридину за здатністю з'єднуватися з нуклеїновими кислотами і практично не впливає на РНК-полімеразну реакцію "in vitro" [46]. Прийнято вважати, що фармакодинамічний ефект тетрагідроакридинів, перш за все такрину, має антихолінергічний характер, у його основі лежить специфічне зв'язування з цим ферментом, а мепакрин здатний пригнічувати синтез метаболітів арахідонової кислоти за рахунок гальмування фосфоліпази.

Речовини, що є інгібіторами синтезу нуклеїнових кислот, теоретично можуть викликати загибель будь-яких клітин. Вища, порівняно з тваринною клітиною, швидкість обміну нуклеїнових кислот у клітинах мікроорганізмів і пов'язаний з цим менший час життя їх і-РНК пояснюються розбіжностями у чутливості даних біологічних об'єктів до дії аналізованої групи речовин. Природно також припустити, що для об'єктів з однаковою мітотичною активністю спектр дії інгібіторів синтезу нуклеїнових кислот головним чином визначається структурно-функціональними особливостями організації бар'єру проникності тест-об'єкта.

Важливою особливістю похідних акридину, що знайшли застосування в медицині (акрихін, етакридин, акрифлавін, профлавінсульфат тощо), є їхня активність у присутності білків сироватки крові, що створило їм помітні переваги, порівняно з іншими антисептиками і дезінфектантами. Можливо, саме індиферентність щодо білкових молекул лежить в основі вибіркової дії речовин даної групи на клітини мікроорганізмів. Це припущення узгоджується з висновком Albert [33] про виражену реакційну здатність молекул з плоскими структурами, що відповідають конфігурації рецепторів мікробної клітини. Відсутність у молекулі барвника такої плоскої структури викликає просторові утруднення в момент контакту, і сполука звичайно є малоактивною. Як приклад, Chalmer [37] наводить 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідроакридин, що, навіть будучи великою мірою іонізованим, бактеріостатичною активністю не володіє.

Якщо взаємодію барвника з генетичним матеріалом вивчено досить детально, аж до створення молекулярної моделі його впро-

вадження в структуру ДНК, то початкові етапи зв'язування акридинів з поверхнею клітини ще не одержали чіткої інтерпретації.

Надзвичайно цінними в цьому відношенні є дані, отримані в процесі використання акридинових барвників в експериментальній мікробіології. Зокрема відомо, що прижиттєва обробка клітин стафілокока акридиновим-оранжевим (АТ) у нейтральному і кислому середовищі практично миттєво призводить до зміни його люмінесценції, як це звичайно спостерігається при взаємодії з нуклеїновими кислотами. Це свідчить про впорядковану адсорбцію молекул барвника на поверхневих структурах клітинної стінки. Можливим кандидатом на роль акцепторів АТ є тейхоеві кислоти матриксу клітинної стінки, що мають, як і нуклеотидний ланцюг, фосфоестеразні зв'язки. Було продемонстровано, що пригнічення синтезу тейхоевих кислот у стафілококів шляхом вирощування на живильних середовищах, які містять різноманітні суббактеріостатичні концентрації пеніциліну, так само як і екстракція тейхоевих кислот з клітинних стінок або блок їхніх фосфатних груп іонами Mg^{2+} , знижують зв'язування барвника. На основі цього зроблено висновок про те, що саме рибіттейхоеві полімери, що займають як матрикс простір між прошарками пептидоглікану клітинної стінки стафілокока, є найбільш імовірним субстратом для взаємодії з АТ на рівні клітинної мембрани [11]. Немаловажним чинником, що визначає характер накопичення речовини в клітині, є особливості функціонування механізмів активного транспорту. Кількісні характеристики процесу виведення АТ з клітин асцитної карциноми Ерліха [10] свідчать не тільки про наявність механізмів активної елімінації барвника, що накопичився в клітинах, але й про існування розходжень в ефективності їхнього функціонування відносно похідних акридину з різноманітною структурою. Показано, що АТ й акрихін, що акумулюються в лізосомах, виводяться набагато інтенсивніше, ніж профлавін або риванол. Було доведено, що отримані результати не визначалися розбіжностями у квантовому виході люмінесценції при зв'язуванні барвників з нуклеїновими кислотами. Даних про подібні дослідження бактерійних клітин, що не володіють настільки потужними сегрегаційними структурами як лізосоми еукаріотів, у доступній нам літературі не виявлено.

Висвітлюючи загальні закономірності взаємодії амінопохідних акридину з клітиною, необхідно відзначити, що процес проникнення відбувається, найбільш імовірно, за рахунок простої дифузії, хоча, можливо, певну роль

відіграє й розчинення цих речовин у ліпідах клітинної оболонки. Безсумнівним впливом на характер дифузії володіє сорбційна здатність клітинної стінки, що, як показано у ряді випадків, може бути зумовлена вмістом рибіттейхоевих кислот, що включають, як і нуклеотидний ланцюг, фосфодіестеразні зв'язки, які забезпечують первинну фіксацію амінопохідних акридину.

Проникаючи в клітину, похідні акридину вступають у специфічну взаємодію з її окремими компонентами. Морфологічним вираженням процесу внутрішньоклітинної міграції є розширення каналцевих структур (якщо такі є). Вплив 3,6-діаміноакридинів у концентраціях, що перевищують 20 мкг/мл, призводить до серйозних пошкоджень, які проявляються в інактивації рибосомного апарату і його аглютинації з утворенням структур так званої криноми. Розрив концентрацій, що забезпечують гальмування мітотичної активності й викликають утворення криноми, 10-кратний і більше (ці дані добре узгоджуються з тим фактом, що клітини, оброблені АТ, не діляться, але й не дегенерують). Тривалий вплив криномогенного фактора (понад 24 год) не сумісний з життєздатністю. Для дії ще більш високих концентрацій аміноакридинів, крім втручання в синтез білка і нуклеїнових кислот, характерне гальмування дихальних процесів у клітині, що в даному випадку і є безпосередньою причиною її загибелі.

Інтеркаляція амінопохідних акридину в молекулу призводить до гальмування синтезу ДНК і ДНК-залежного синтезу РНК. Цей ефект при використанні помірних концентрацій звичайно не дуже виражений, проте й цього буває достатньо для пригнічення мітотичної активності. Прикладом може бути риванол, що володіє лише опосередкованим впливом на процеси білкового синтезу.

Зазначена властивість акридинів утворювати комплекси з нуклеїновими кислотами викликає особливий інтерес у біологів і хіміотерапевтів у міру того, що саме епісомні генетичні чинники й еволюціонування механізмів їх поширення в бактерійній популяції відіграють головну роль у виникненні й масштабах проблеми лікарської резистентності.

Тропність акридинів до ДНК дозволила Denes, Polgar [36] здійснити досліди з блокування зв'язку фагової ДНК з білками. Встановлений факт виявився надзвичайно корисним при вивченні генетичних зв'язків у мікробних популяціях і з'ясовуванні ролі плазмід у формуванні стійкості до антибактерійних препаратів. Було показано, що завдяки про-

цесам кон'югації і трансдукції поширення лікарської резистентності може відбуватися при відсутності контакту з антибактерійними агентами і цим феномен подібний з епідемічним процесом, що й послужило підставою для назви такого типу лікарської резистентності "інфекційною". Генетичні детермінанти, відповідальні за лікарську резистентність бактерій, було позначено як R-фактори й ідентифіковано як позахромосомні генетичні елементи (плазміди), що складаються з двох сегментів: r-детермінантів лікарської резистентності й одиниці RTF ("resistance transfer factor"), що несе r-детермінанти і контролює епісомну автономію. Після впровадження в клітину реципієнта ДНК, що входить до складу R-фактора, здатна як до реплікації (процес триває 15-18 хв), так і до рекомбінації з іншими епісомними елементами (наприклад з утворенням детермінантів, що кодують множинну лікарську резистентність), визначаючи набагато ширші адаптаційні можливості порівняно зі спонтанною мутацією і селекцією. Сучасні масштаби використання антибіотиків (у т. ч. у тваринництві) надають серйозні селекційні переваги R⁺-клонам мікроорганізмів, у результаті чого збільшується їхня циркуляція не тільки в госпітальному середовищі, але й у продуктах харчування тваринного походження, зовнішньому середовищі й, відповідно серед нормальної мікрофлори людини й тварин [39, 43, 44, 45]. Наприклад, поява в Європі ванкомицинрезистентних ентерококів унаслідок застосування глікопептидних антибіотиків у сільському господарстві [24].

Найбільш очевидним шляхом розв'язання цієї проблеми є обмеження використання певних видів антибіотиків, до яких сформувалася резистентність, їх заміна рівними за ефективністю препаратами. Незважаючи на безсумнівну ефективність такого роду заходів, практична реалізація програм цілеспрямованої антибіотичної політики пов'язана з рядом труднощів: збудники нозокоміальних інфекцій, як правило, характеризуються множинною стійкістю до препаратів різних класів, і виробити ефективні схеми лікування не завжди легко, при позалікарняних інфекціях обмежувальні заходи повинні охоплювати значні географічні території і т. д. Таким чином, пошук альтернативних шляхів впливу на процеси формування і поширення лікарської резистентності продовжує залишатися актуальним питанням.

Той факт, що здатністю впливати на плазмідні фактори бактерій володіють речовини, тропні до ДНК, у тому числі й похідні акридину,

на думку багатьох дослідників [3, 15, 22, 30], визначає перспективу їх використання для пригнічення лікарської резистентності бактерій, запобігання їх розвитку і поширенню. Так, було показано, що акрихін (125 мкг/мл) при 72-годинній інкубації *E. coli* на середовищах з ампіциліном (0,99 мкг/мл) і неоміцином (1,99 мкг/мл) запобігав розвитку стійкості культури до ампіциліну і знижував швидкість її формування щодо неоміцину [22]. Аналогічним ефектом стосовно культур *E. coli*, *S. aureus*, *M. tuberculosis* і *A. aerogenes* володів атебрин у комбінації з різноманітними антибіотиками. Експерименти з пригнічення продукції β -лактамази золотистого стафілокока похідними акридину, що елімінують пеніцилінази плазмиди (ПП) [31], показали, що найбільшу частоту елімінації ПП викликали 3,6-діаміноакридини: акрифлавін (15,7-23,1 %); акридин жовтогарячий (11,8-13,0 %); профлавін (6,8-8,0 %). Вираженою елімінуючою активністю володіли 9-аміноакридини: акридин № 27 (10,5-14,2 %); акридин № 20 (4,9-6,0 %), акрихін (4,3-5,7 %) й акридин № 37 (3,3-4,5 %), що належать до групи 9-пара(феніл)-акридинів. Показано, що найбільш активними інгібіторами продукції пеніцилінази є акрифлавін і профлавін. Через 48 год після початку інкубації продукція ферменту при дії профлавіну становила 11,8 % від контрольного рівня. Акрифлавін призводив до ефекту в 19,6 % випадків.

При вивченні дії похідних акридину на процес фагової трансдукції (що відіграє, поряд з кон'югацією, істотну роль у поширенні факторів резистентності) було показано [32],

що β -(9-акридил)- α -аланіндигідрохлор-гідрат (акридин № 38) у концентраціях 25-250 мкг/мл цілком запобігав трансдукції пеніциліназного структурного гена *pen Z* між культурами золотистого стафілокока. Вплив профлавіну і риванолу на цей процес був менш вираженим. Дослідження з вивчення дії профлавіну на лізуючі фаги показали, що цей препарат здатний пригнічувати лізис бактеріофагом індикаторної культури в дозах, що не впливають на розмноження мікроорганізмів. Дослідження, виконані на моделях фаг-АО і фагова ДНК-АО, дозволили довести, що саме взаємодія барвника з фаговою ДНК лежить в основі аналізованого феномена (при додаванні ДНК спостерігалось відвернення пригнічення лізису). Побічним доказом може також бути інформація про те, що одна фагова частка здатна незворотно зв'язати $5 \cdot 10^4$ молекул АТ, що відповідає числу нуклеотидних пар у молекулі фага λ [8].

Резюмуючи огляд, можна відзначити, що сполуки цієї групи мають високий фармако-терапевтичний потенціал, що ґрунтується на широкому спектрі біологічних ефектів, особливе місце серед яких займає вплив на окремі ланки механізмів поширення епісомних генетичних детермінант у бактерійних популяціях. З огляду на зростання ролі й масштаби такого явища, як лікарська резистентність і її залежність від функціонування зазначених механізмів, уявляється раціональним включити розгляд цього аспекту в межі стандартної схеми вивчення антибактерійної дії при розробці сучасних протимікробних препаратів.

Література

1. Альберт А. Избирательная токсичность: Пер. с англ. / Под ред. В.А. Филова. – М.: Медицина, 1989. – 523 с.
2. Андреев Е.И., Смирнова Г.К., Рыжкова Н.Г и др. Физиологическая активность четвертичных солей 3,4-диметилхинолина и их 4-стириловых производных // Физиол. акт. вещества. – Вып. 20. – С. 74-77
3. Афиногенов Г.Е., Копылова Т.Е. Предупреждение формирования лекарственной устойчивости применением биологически активных веществ // Антибиот. – 1984. – № 6. – С. 417-420.
4. Банний И.П., Дикая И.М., Силаев Л.Ф. и др. Антибактериальная активность бензотиазол-ареносульфонилоксаминатов 2-этокси-6,9-диаминоакридиния. – Харьков, 1981. – С. 79.
5. Волянский Ю.Л. Противомикробная активность новых азот и фосфорсодержащих органических соединений фенолов и ферроценов: дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1981. – 320 с.
6. Гайдукевич А.Н., Гончаренко Ю.Л., Дикая Е.М. Синтез и антибактериальная активность замещенных 6-нитро-9-аминоакридина // Хим. фарм. журн. – 1973. – № 7. – С. 14-18.
7. Гайдукевич А.Н., Гончаренко Ю.Л., Штучная В.П. Синтез и антибактериальная активность производных 9-метиламиноакридина // Хим. фарм. журн. – 1976. – № 7. – С. 33-37.
8. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М.: Наука, 1961. – 253 с.
9. Зеленин А.В. Взаимодействие аминопроизводных акридина с клеткой. – М.: Наука, 1971. –

218 с.

10. Зеленин А.В., Кирьянов В.А. и др. О механизме цитостатического действия аминопроизводных акридина // Фармакол. и токсикол. – 1970. – **33**, № 1. – С. 96.

11. Игнатов В.В., Щербаков А.А. Тейхоевые кислоты как возможный акцептор акридинового оранжевого на поверхности клеточной стенки стафилококка // ЖМЭИ. – 1975. – № 3. – С. 48-52.

12. Ляхов С.А., Кривцанова Н.М., Хоменко О.А. Синтез і цитостатична активність деяких аміноакридинів // Фарм. журн. – 2000. – № 2. – С. 61-64

13. Мартыновский А.А., Бражко А.А., Булах В.Г. и др. Синтез и противомикробная активность производных пиридина, хинолина и акридина // Хим. фарм. журн. – 1991. – **25**, № 4. – С. 20-23.

14. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Харьков: Торсинг. – 1997. – 624 с.

15. Мороз А.Ф., Бородин Н.С., Подборнов В.М. Предупреждение развития лекарственноустойчивых форм у стафилококков комбинациями антибиотиков с ДНК-тропными веществами // Антибиот. – 1971. – № 5. – С. 405-408.

16. Мороз А.Ф., Нецадим Г.Н. Микробиологические и эпидемиологические аспекты инфекционной лекарственной устойчивости бактерий // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. – 1975. – № 9. – С. 11-19.

17. Новосад Н.В. Антимикробная активность тио-, тиоксо- и оксопроизводных акридина // Микробиол. журн. – 1996. – **58**, № 4. – С. 55-58

18. Омелянич Л.О., Новосад М.В. Прогнозування можливих видів біологічної активності в рядах S- та N-похідних акридину // Ліки. – 1998. – № 1. – С. 60-61.

19. Панасенко А.И., Мартыновский А.А., Драгозов С.М. Гепатозащитная и антиоксидантная активность некоторых метокси- и нитропроизводных акридинил-9-тиоуксусных кислот // Фармакол. и токсикол. – 1987. – № 6. – С. 95-96.

20. Пат. 19283 Україна, МПК5 C07D219/10, C07C101/54, A61K31/435 2-етоксі-6,9-діаміноакридиній-2-аміно-4-нітробензоат, що проявляє антимікробну активність / Ісаєв С.Г., Євдокімова О.С., Зупанець І.А. та ін. – Заявл. 02.01.90; опубл. 25.12.97 // Промислова власність. – 1997. – № 6. – С. 3.1.227

21. Пат. 19286 Україна, МПК5 A61K31/435 2-етоксі-6,9-діаміноакридиній – 3-нітро-2-N-(4-метілфеніл) антранілат, що проявляє антимікробну активність / Ісаєв С.Г., Євдокімова О.С., Жилієва Г.М. та ін. – Заявлено 15.06.90; опубл. 25.12.97 // Промислова власність. – 1997. – № 6. – С. 3.1.71.

22. Подборнов В.М. Предупреждение развития лекарственноустойчивых форм E. Coli антибиотиками в сочетании с ДНК-тропными веществами // Антибиот. – 1972. – № 6. – С. 539-542.

23. Свечнікова О.М. Реакційна здатність, зв'язок структура-біологічна активність та використання похідних N-фенілантранілової кислоти та акридину: Автореф. дис. ... д-ра. хім. наук. – Харків, 1999. – 35 с.

24. Сидоренко С.В. Перспективы контроля распространения антибиотикорезистентности // Антибиот. и химиотер. – 1998. – **43**, № 7. – С. 3-6.

25. Сухомлинов А.К. Исследование в области производных акридина: Дис. ... докт. фарм. наук. – Харьков, 1973. – 320 с.

26. Сухомлинов А.К., Боровская М.В. и др. Синтез и биологическая активность аминопроизводных акридина // Актуальные вопросы поиска и технологии лекарств: Тез. докл. – Харьков, 1981. – С. 151.

27. Сухомлинов А.К., Бризицкая А.И. Синтез и антибактериальная активность производных 9-метиламиноакридина // Оптимизация лекарственного обеспечения и пути повышения эффективности фармацевтической науки: Тез. докл. – Харьков, 1986. – С. 173.

28. Сычева З.Г., Калиман В.А., Сухомлинов А.К. Синтез, свойства и биологическая активность 9-N-замещенных акридинов // Актуальные вопросы поиска и технологии лекарств: Тез. докл. – Харьков, 1981. – С. 153.

29. Тринус Ф.П. Фармакотерапевтический справочник. – К.: Здоров'я. – 1988. – 592 с.

30. Шагинян И.П. Влияние некоторых факторов на интенсивность появления и накопления лекарственноустойчивых стафилококков у больных в стационаре: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1974. – 35 с.

31. Шраер Д.П., Политова З.Х. Элиминация пенициллиназных плазмид новым производным акридина "димер" // Антибиот. – 1978. – № 5. – С. 428.

32. Шраер Д.П., Ратгауз Г.Л. Факторы, влияющие на трансдукцию генетических детерминантов пенициллиназной активности и патогенности у золотистого стафилококка // ЖМЭИ. – 1975. – № 3. – С. 91.

33. Albert A., Goldacre R. Mode of action of acridine antibacterial // Nature. – 1948. – **161**. – P. 95-105.

34. Albert A. The acridines. – London, 1951. – 486 p.

35. Albert A., Marshall P.B. // Nature. – 1948. – **161**. – P. 41-100.

36. Albert A. The acridines. – London, 1966. – 500 p.

37. Chalmer L. Domestic and industrial chemical specialities. – London, 1966. – 540 p.

38. Gimbi A.A., Kinabo L.D. Influence of atropine on acute toxicity of isometamidium // Vet. Hum. Toxicol. – 1992. – **34**, № 5. – P. 398-400.

39. Naumovski L., Quinn J.P., Viyashiro D. et al. Outbreak of ceftazidime resistance due to a novel extended-spectrum β -lactamase in isolates from cancer patients // Antimicrob. Agents Chemother. – 1992. – **36**. – P. 1919-1996.

40. Otesile E.B., Fagbemi B.O. et al. The response of pigs experimentally infected with Trypanosoma brucei to isometamidium chloride therapy and the relation to nutrition // Vet. Q. – 1992. – **14**, № 3. – P. 88-91.

41. Sutherland I.A., Mounsey A et al. Kinetic modeling of isometamidium chloride (Samorin) uptake by Trypanosoma Congolese // Parasitol. – 1992. – **105**, № 1. – P. 91-95.

42. Sutherland I.A., Codja V., Moloo S.K et al. Therapeutic activity of isometamidium chloride in Boran

cattle against a tsetse-transmitted clone of *Trypanosoma congolense* with a low level of drug resistance // *Trop. Anim. Health Prod.* – 1992. – **24**, № 3. – P. 157-163.

43. Watanabe T. Infectious heredity of multiple drug resistance in bacteria // *J. Bacteriol.* – 1963. – **85**. – P. 814-841.

44. Yamamoto T., Tamyra Yokota T. Antiseptic and antibiotic resistance plasmid in *Staphylococcus aureus*

as that posses and acrinol resistance // *Antimicrob. Ag. Chemother.* – 1988. – **32**, № 6. – P. 932-935.

45. Yoshicawa M. Drug sensitivity and mytability to drug resistance associated with the presence of R-factor // *Genet. Res.* – 1971. – **17**. – P. 1-17.

46. Young P.R., Kallenbach N.R. Binding of 9-aminoacridines to desoxyribonucleotide phosphates of delinol sequence: preference and stereochemistry // *J. Mol. Biol.* – 1981. – **145**, № 4. – P. 785- 813.

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ АКРИДИНА И ФЕНАНТРИДИНА

Ю.Л. Волянский, С.Л. Крестецкая

ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ИМ. И.И. МЕЧНИКОВА АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Множество производных акридина – известные антимикробные агенты, эффект которых основан на инактивации ДНК. Способность к связыванию с нуклеиновыми кислотами обуславливает их влияние на эписомальные генетические элементы, распространенные среди бактерий. Этот аспект имеет важное значение поскольку определяет активность препарата и антибиотикорезистентность бактерий к нему. В обзоре определены перспективы создания новых производных акридина и фенантридина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: противомикробные препараты, производные акридина, производные фенантридина, антибиотикорезистентность.

PERSPECTIVES OF CREATION OF ANTIMICROBIAL REMEDIES BASED ON THE ACRIDINE AND PHENANTRIDINE DERIVATIVES

Yu.L. Voliansky, S.L. Krestetska

INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY BY I.I. MECHNIKOV OF AMN OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

A number of acridine derivatives are well-known antimicrobial agents with action based on DNA inactivation. The capacity to binding with nucleic acids determines their effect on episomal genetic elements spread in bacterial population. This aspect is of present interest because it determines the drug activity and bacterial antibioticoresistance to it. The perspectives of new acridine and phenantridine derivatives creation have been defined.

KEY WORDS: antibiotics, acridine derivatives, phenantridine derivatives, antibioticoresistance.

Отримано 09.08.2002 р.

Адреса для листування: Ю.Л. Волянський, Інститут мікробіології й імунології АМН України ім. І.І. Мечникова, вул. Пушкінська, 14, Харків, 61006, Україна.