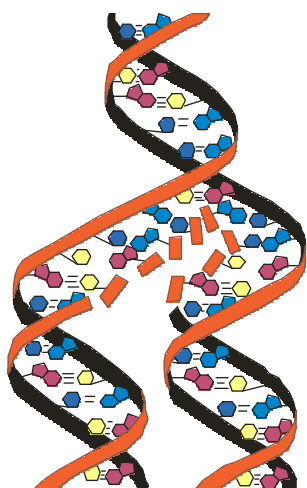


*Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук національного прогресу*

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

2 TOM 5
2003

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.edu.te.ua
http://tdma.edu.te.ua

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

© Науковий журнал "Медична хімія"
© Scientific Journal "Medical Chemistry"

Зміст

Contents

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Стрельченко К.В., Іншина Н.М., Каліман П.А. (Харків) РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ГЕМУ ТА ГЕМОПРОТЕЇНІВ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ РАБДОМІОЛІЗІ 5
- Губський Ю.І., Амосова К.М., Конопльова Л.Ф., Задорін Є.М. (Київ) ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В КРОВІ ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ЕЙЗЕНМЕНГЕРА 9
- Отришко І.А. (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНИХ ТА АНАЛГЕТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИЦІЇ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ З ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДОМ 16
- Оксененко С.В., Каліман П.А. (Харків) МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ ТА ЇХ ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ПРИ ВВЕДЕННІ ЕНТОКСИФІЛІНУ ТА ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ В ДЕЯКИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ 21
- Непорада К.С. (Полтава) ЗМІНА ОРГАНІЧНОГО МАТРИКСУ НИЖНЬОЩЕЛЕПНИХ КІСТОК У ЩУРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ НЕРВОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ 28
- Левашова О.Л., Кисличенко В.С. (Харків) ЯКІСНЕ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТ І БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО КОМПЛЕКСУ СОЇ 32
- Фіра Л.С., Гонський Я.І. (Тернопіль) ЗАСТОСУВАННЯ КРЕЗАЦИНУ ТА ФІБРАБЕТУ З МЕТОЮ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У ТВАРИН, УРАЖЕНИХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ, НІТРИТОМ НАТРІЮ ТА НИЗЬКИМИ ДОЗАМИ РАДІАЦІЇ 36
- Гунько І.П. (Вінниця) АНЕМІЧНИЙ СИНДРОМ У ЩУРІВ З АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ. ЗВ'ЯЗОК ЗІ СТАТУСОМ ВІТАМІНІВ ТА СЕЛЕНУ, ФАРМАКОТЕРАПІЄЮ ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРІЮ І МЕТОТРЕКСАТОМ 40
- Яковлева Л.В., Горбань Є.М., Сахарова Т.С. (Харків) ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ МОДУЛОВАЛЬНОГО ВПЛИВУ ЕЛАГОТАНІНОВІСНИХ ПРЕПАРАТІВ НА АКТИВНІСТЬ ПРООКСИДНИХ ФЕРМЕНТІВ 45
- Пропіснова В.В. (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИВИРАЗКОВОЇ АКТИВНОСТІ ДІОКСАГЛЮКАМІНУ, ОКСАГЛЮКАМІНУ І ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ НА СТРЕСОВІЙ МОДЕЛІ УРАЖЕННЯ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА 49
- Андрушко І.І. (Вінниця) СПІВВІДНОШЕННЯ ФОСФАТИДИЛЕТАНОЛАМІН/ФОСФАТИДИЛХОЛІН ЯК МАРКЕР ІНДУКОВАНИХ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ МЕТИЛЮВАННЯ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ 52
- Мохорт М.А., Киричок Л.М., Серединська Н.М. (Київ) ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТУ "ОРИНОЛТmПЛЮС" ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДАНІ 59
- Богуславець О.Т. (Тернопіль) ДИНАМІКА СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ДІТЕЙ З АЛЕРГІЧНИМ ДІАТЕЗОМ ПІСЛЯ РІЗНИХ КОМПЛЕКСІВ ТЕРАПІЇ 65
- Безруков О.П., Руднева І.І., Мельнікова О.Б. (Сімферополь, Севастополь) ВІДПОВІДНІ РЕАКЦІЇ АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ НА ДІЮ ФУНГІЦИДУ КУПРОКСАТУ 70

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Strel'chenko K.V., Inshyna N.M., Kaliman P.A. (Kharkiv) REGULATION OF HEME AND HEMOPROTEIN METABOLISM IN THE RAT LIVER UNDER EXPERIMENTAL RHABDOMYOLYSIS 5
- Gubskiy Yu.I., Amosova K.M., Konoplyova L.F., Zadorin Ye.M. (Kyiv) FREE RADICAL PROCESSES IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH EYZENMENGER'S SYNDROME 9
- Otrishko I.A. (Kharkiv) RESEARCH OF TOXIC AND ANALGESIC PROPERTIES OF THE SODIUM DICLOFENAC WITH GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE COMPOSITION 16
- Oksenenko S.V., Kaliman P.A. (Kharkiv) LIPIDS METABOLISM AND LIPID PEROXIDATION AT PENTOXIFYLLINE AND COBALT CHLORIDE INJECTIONS IN SOME ORGANS OF RATS 21
- Neporada K.S. (Poltava) ORGANIC MATRIX CHANGES IN RAT MANDIBULAR BONES OF DIFFERENT NERVOUS REGULATION TYPES AT CHRONIC STRESS 28
- Levashova O.L., Kyslychenko V.S. (Kharkiv) QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF AMINOACIDS COMPOSITION AND BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX OF SOYA 32
- Fira L.S., Honsky Ya.I. (Ternopil) USING OF CRESACIN AND FIBRABET FOR CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS IN ANIMALS POISONED BY TETRACHLORMETHAN AND NATRIUM NITRITIS AND LOW DOSES OF RADIATION 36
- Gunko I.P. (Vinnytsia) ANAEMIC SYNDROME IN RATS WITH ADJUVANT ARTHRITIS. CORRELATION WITH STATUS OF VITAMINS AND SELENIUM, PHARMACOTHERAPY BY NATRIUM DICLOPHENAC AND METHOTREXATE 40
- Yakovleva L.V., Gorban Ye.N., Sakcharova T.S. (Kharkiv) EXPERIMENTAL STUDY OF MODULATING INFLUENCE ELLAGOTANNIN-CONTAINING DRUGS ON ACTIVITY OF PROOXYDATIVE ENZYMES 45
- Propisnova V.V. (Kharkiv) RESEARCH OF ANTIULCER ACTIVITY OF DIOXAGLUCAMINE, OXAGLUCAMINE AND GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE ON STRESS MODEL OF STOMACH MUCOUS DEFEAT 49
- Andrushko I.I. (Vinnytsia) THE PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE AND PHOSPHATIDYLCHOLINE RATIO AS THE MARKER OF HYPERHOMOCYSTEINEMIA-INDUCED DISORDERS OF METHYLATION PROCESSES IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION 52
- Mokhort N.A., Kyrychok L.M., Seredynska N.M. (Kyiv) PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF PREPARATION ORINOLTmPLUS. (EXPERIMENTAL DATA) 59
- Bohuslavets O.T. (Ternopil) DYNAMICS OF STATE OF LIPID PEROXIDATION, ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM AND ENDOGENOUS INTOXICATION IN CHILDREN WITH ALLERGIC DIATHESIS AFTER DIFFERENT TREATMENT COMPLEXES 65
- Bezrukov O.F., Rudneva I.I., Melnikova O.B. (Simferopol, Sevastopol) THE RESPONSES OF BLOOD ANTIOXIDANT ENZYME SYSTEM OF RATS ON FUNGICIDE CUPROKSAT EFFECT 70

<i>Радченко М.Р.</i> (Київ) СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПРОТИРАДИКАЛЬНОГО ЗАХИСТУ В ЗОРОВОМУ НЕРВІ У КРОЛИКІВ З МЕТАНОЛОВОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ	74	<i>Radchenko M.R.</i> (Kyiv) LIPID PEROXIDATION CONDITION AND ACTIVITY OF ANTIRADICAL ENZYMES IN THE OPTICAL NERVE OF RABBITS WITH METHANOL INTOXICATION	
КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ		BRIEF REPORTS	
<i>Андрашко Ю.В., Коляденко В.Г., Брюзгіна Т.С., Суліма Г.Г.</i> (Київ) ВИВЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ПСОРИАЗІ	78	<i>Andrashko Yu.V., Kolyadenko V.G., Bryuzgina T.S., Sulima H.H.</i> (Kyiv) STUDYING FATTY-ACID COMPOSITION LIPOPROTEINS IN BLOOD SERUM LIPIDS IN PATIENTS WITH PSORIASIS	
<i>Соловська С.С.</i> (Ірпінь) ВИВЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ЕСЕНЦІАЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ ПОТУ ЛІЦЕЇСТІВ У ПЕРІОД НАВЧАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ	81	<i>Solovska S.S.</i> (Irpen) STUDYING OF VIOLATIONS OF ESSENTIAL FAT ACIDS METABOLISM OF LYCEUM STUDENTS' SWEAT LIPIDS DURING EDUCATIONAL PROCESS	
<i>Варус В.І., Буднік О.В., Брюзгіна Т.С.</i> (Ірпінь, Київ) ОЦІНКА ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКСУ СИРОВАТКИ КРОВІ ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ СТРЕСУ	84	<i>Varus V.I., Budnik O.V., Bryuzgina T.S.</i> (Irpen, Kyiv) ASSESSMENT OF BLOOD SERUM LIPID COMPLEX OF SERVICEMEN WHO HAVE BEEN EXPOSED TO STRESS SITUATIONS	
<i>Новосел О.М., Кисличенко В.С., Ханін В.А.</i> (Харків) ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ, ОТРИМАНИХ З ЛИСТЯ ЯБЛУНІ ЛІСОВОЇ ТА ГРУШІ ЗВИЧАЙНОЇ	87	<i>Novosel O.M., Kyslychenko V.S., Khanin V.A.</i> (Kharkiv) ANALYSIS OF LIPOPHILIC FRACTIONS OBTAINED FROM LEAVES OF MALUS SILVESTRIS AND PYRUS COMMUNIS	
<i>Лебединець В.О., Гладух Є.В., Блажеєвський М.Є., Коваленко С.М.</i> (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ХІМІЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ КОМПОНЕНТІВ КРЕМУ ДИФТОРАНТОВОГО 1 %	91	<i>Lebedynets V.O., Gladukh Ye.V., Blazheyevsky M.Ye., Kovalenko S.M.</i> (Kharkiv) RESEARCH OF CHEMICAL INTERACTION OF DIFTORANT CREAM 1 % COMPONENTS	
<i>Пікас О.Б.</i> (Київ) ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ СУРФАКТАНТА В КОНДЕНСАТІ ВИДИХНУТОГО ПОВІТРЯ У ЛІКВІДАТОРІВ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС	94	<i>Picas O.B.</i> (Kyiv) LIPID PEROXIDATION IN SURFACTANT OF EXPIRED AIR CONDENSATE FROM LIQUIDATORS OF THE CLORNOBYL ACCIDENT CONSEQUENCES	
<i>Хворост О.П.</i> (Харків) ЛОКАЛІЗАЦІЯ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У РОСЛИНАХ ПОРЯДКУ BETULALES. ДОСЛІДЖЕННЯ ПАГОНІВ РОСЛИН РОДУ БЕРЕЗА BETULA L.	97	<i>Khvorost O.P.</i> (Kharkiv) LOCALIZATION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN THE PLANTS OF BETULALES ORDER. THE INVESTIGATION OF BETULA L. GENUS PLANT SHOOTS	
<i>Кравченко І.А., Александрова О.І., Овчаренко Н.В.</i> (Одеса) ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ ТРАНСДЕРМАЛЬНИХ ТЕРАПЕВТИЧНИХ СИСТЕМ, ЩО МІСТЯТЬ ПОХІДНІ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ	101	<i>Kravchenko I.A., Alexandrova O.I., Ovcharenko N.V.</i> (Odessa) PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES AND STABILITY OF THE TRANSDERMAL THERAPEUTIC SYSTEMS, CONTAINING 1,4-BENZDIAZEPINE DERIVATIVES	
<i>Магальяс В.М., Ташчук К.Г., Радько М.М., Рудницький Р.І., Перепелюк М.Д.</i> (Чернівці) ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ НЕФРОТОКСИЧНОЇ ДІЇ КАДМІЮ, ТАЛІЮ, ПЛАТИНИ ТА РТУТІ	104	<i>Magalyas V.N., Tashchuk K.G., Radko M.M., Rudnytskyi R.I., Perepeliuk M.D.</i> (Chernivtsi) THE GENERAL SPECIFIC CHARACTERISTICS OF NEPHROTOXIC ACTION OF CADMIUM, THALLIUM, PLATINUM AND MERCURY	
<i>Пришляк А.М., Файфура В.В., Коваль В.Б.</i> (Тернопіль) ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І ХОЛІНЕРГІЧНІ МЕХАНІЗМИ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ З РІЗНОЮ РЕЗИСТЕНТНІСТЮ ДО ГІПОКСІЇ	107	<i>Pryshlyak A.M., Faifura V.V., Koval V.B.</i> (Ternopil) LIPID PEROXIDATION AND CHOLINERGIC MECHANISMS IN THE BRAIN OF RATS WITH DIFFERENT RESISTANCE TO HYPOXIA	
<i>Король В.В.</i> (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ЛИСТІ БУЗКУ ЗВИЧАЙНОГО (SYRINGA VULGARIS)	110	<i>Korol V.V.</i> (Kharkiv) RESEARCH OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN LEAVES OF BLUEASH (SYRINGA VULGARIS)	
<i>Халед Хамзе Хасан</i> (Тернопіль) СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У НЕДОНОШЕНИХ ДІТЕЙ ІЗ ВНУТРІШНЬОУТРОБНИМИ ІНФЕКЦІЯМИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВИДУ ВИГОДОВУВАННЯ	114	<i>Khaled H. Hamzeh</i> (Ternopil) STATUS OF LIPID PEROXIDATION OF THE PREMATURE BABIES WITH INTRAUTERINE INFECTION DEPENDING ON THE FEEDING METHOD	
<i>Малий В.В.</i> (Харків) КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ У ПАГОНАХ ДЕЯКИХ РОСЛИН ФЛОРИ УКРАЇНИ	117	<i>Maliy V.V.</i> (Kharkiv) QUANTITATIVE DETERMINATION OF HYDROXICINNAMIC ACIDS IN SHOOTS OF SOME PLANTS OF UKRAINE'S FLORA	
<i>Кінаш М.І.</i> (Тернопіль) ДИНАМІКА МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У СПОЛУЧНІЙ ТКАНИНІ КІСТКИ ДІТЕЙ З ГЕПАТОБІЛІАРНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВИРАЖЕННЯ ОСТЕОПЕНІЧНОГО СИНДРОМУ	119	<i>Kinash M.I.</i> (Ternopil) DYNAMICS OF METABOLIC DISTURBANCES IN CONNECTIVE TISSUE OF BONE IN CHILDREN WITH HEPATOBILIARY PATHOLOGY DEPENDING ON EXPRESSIVENESS OF OSTEOPENIC SYNDROME	
<i>Боймиструк Т.П.</i> (Тернопіль) СТАН ПОКАЗНИКІВ КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНОГО ОБМІНУ В ДІТЕЙ З РЕНАЛЬНИМИ ОСТЕОПАТІЯМИ	122	<i>Boymystruk T.P.</i> (Ternopil) CONDITION OF PARAMETERS OF THE CALCIUM-PHOSPHORIC METABOLISM IN CHILDREN WITH RENAL OSTEOPATIES	

УДК 577.151.63

РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ГЕМУ ТА ГЕМОПРОТЕЇНІВ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ РАБДОМІОЛІЗІ

К.В. Стрельченко, Н.М. Іншина, П.А. Каліман
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА

Вивчено спектр поглинання сироватки крові в Soret-ділянці та при довжині хвилі 280 нм, активність δ -амінолевулінатсинтази, гемоксигенази, триптофан-2,3-діоксигенази та вміст загального гемму в печінці щурів при експериментальному рабдоміолізі (гліцерольна модель). Після введення гліцеролу спостерігались накопичення гемовмісних продуктів у сироватці крові, зростання вмісту загального і вільного гемму, підвищення активностей δ -амінолевулінатсинтази, гемоксигенази і триптофан-2,3-діоксигенази в печінці. Попереднє введення циклогексиміду блокувало підвищення активності досліджуваних ферментів, а також зростання вмісту загального гемму в мітохондріальній фракції, але не впливало на збільшення вмісту загального гемму в гомогенаті та постмітохондріальній фракції печінки через 2 год після введення гліцеролу. Обговорено механізми регуляції метаболізму гемму в печінці щурів за умов експериментального рабдоміолізу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: рабдоміоліз, гем, δ -амінолевулінатсинтаза, гемоксигеназа, триптофан-2,3-діоксигеназа, гліцерол.

ВСТУП. Рабдоміоліз характеризується пошкодженням м'язів, масивним виходом міоглобіну в кров і гемолізом еритроцитів, що відбувається при травмі, гіпертермії, дії на організм різних токсинів [24]. У цих умовах спостерігаються накопичення в крові гемму та гемопротеїнів і їх подальший транспорт у різні тканини та органи [17, 18]. У печінку гем і гемоглобін надходять шляхом рецептор-опосередкованого транспорту в комплексі з гемопексином і гаптоглобіном, що, відповідно попереджує накопичення у клітинах вільного гемму [10, 22, 23]. В умовах інтенсивного гемолізу і м'язової деструкції можливе також неспецифічне надходження гемму в печінку. У цьому випадку гем повільно переноситься до місць зв'язування і деградації, що призводить до накопичення у клітинах вільного гемму [2], показником вмісту якого є ступінь насичення геммом цитозольного білка – триптофан-2,3-діоксигенази. За умов оксидативного стресу пул вільного гемму в клітині може поповнюватися також за рахунок гемму, синтезованого *de novo* внаслідок порушень його транспорту до місць утилізації [14]. Підвищення в клітинах вмісту вільного гемму – прооксиданта призводить до

© К.В. Стрельченко, Н.М. Іншина, П.А. Каліман – д.біол.н., проф., 2003.

активації вільно-радикальних процесів і пошкодження основних компонентів клітини [9, 14].

Захисну роль від пошкодження клітин печінки вільним геммом відіграють індукція гемоксигенази-1 і паралельна індукція гемозв'язувальних білків, зокрема цитозольного білка – триптофан-2,3-діоксигенази [13, 14].

У зв'язку з цим, метою даної роботи було дослідження активності ключового ферменту біосинтезу гемму – δ -амінолевулінатсинтази (δ АЛК-синтаза) (КФ 2.3.1.37), ключового ферменту деградації гемму – гемоксигенази (ГО) (КФ 1.14.99.3), активності й ступеня насичення геммом триптофан-2,3-діоксигенази (ТДО) (КФ 1.13.11.11), вмісту загального гемму в гомогенаті та окремих субклітинних фракціях печінки, а також рівня гемовмісних продуктів і гемопексину в сироватці крові щурів у гліцерольній моделі рабдоміолізу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували щурів-самців лінії Wistar вагою 150-180 г. Гліцерольну модель рабдоміолізу відтворювали, як описано в роботі [17], – гліцерол (50 % водний розчин) вводили в дозі 0,75 мл/100 г по 1/2 дози в кожний стегновий м'яз. Циклогексимід вводили внутрішньочеревинно в дозі 200 мкг/100 г за 0,5 год до

ін'єкції гліцеролу [3]. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 0,5, 2, і 24 год після ін'єкції гліцеролу. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином *in situ*.

Мітохондрії отримували з гомогенату печінки методом диференційного центрифугування, як описано в роботі [4].

Накопичення продуктів, що містять гем і вміст гемопексину, оцінювали за різницею оптичної густини (ΔA) сироватки крові в Soret-ділянці (390-450 нм) і при довжині хвилі 280 нм і виражали в ΔA /мг білка [11].

Активність δ -амінолевулінатсинтази (δ -АЛК-синтази) визначали в гомогенаті печінки за методом [15]. Активність ферменту розраховували за кількістю утвореної δ -АЛК та виражали в нмоль δ -АЛК/год на мг білка. Активність гемоксигенази (ГО) визначали в гомогенаті печінки методом диференційної спектрофотометрії, як описано в роботі [21]. Активність ферменту розраховували за кількістю утвореного білірубину з використанням молярного коефіцієнта поглинання $4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ і виражали в нмоль білірубину/хв на мг білка. Активність триптофан-2,3-діоксигенази визначали в гомогенаті печінки за кількістю кінуреніну, що утворився з L-триптофану [5]. Активність холоферменту триптофан-2,3-діоксигенази визначали без додавання, а загальну активність – при додаванні в середовище інкубації екзогенного геміну. Активність ферменту виражали в нмоль кінуреніну/год на 1 мг білка. Ступінь насичення ТДО гемом оцінювали за співвідношенням активності холоферменту до загальної активності та виражали у відсотках. Вміст загального гему визначали в гомогенаті печінки, мітохондріальній та постмітохондріальній фракціях методом диференційної спектрофотометрії, як описано в роботі [19], і виражали в нмоль на 1 мг білка, використовуючи молярний коефіцієнт поглинання $\epsilon=32,34 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Вміст білка визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [16]. Достовірність змін оцінювали за непараметричним тестом Манна-Уїтні [1].

У роботі використовували такі реактиви: Tris виробництва "MERCK" (Німеччина), піридоксаль-5'-фосфат виробництва "FERAK BERLIN" (Німеччина), NADPH, гліцерол, альбумін, триптофан виробництва "Reanal" (Угорщина), інші реактиви вітчизняного виробництва марки ч.д.а. та х.ч.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Введення гліцеролу спричиняло накопичення продуктів, що містять гем, у сироватці крові щурів в усі досліджувані терміни (табл. 1). Різке (у 25 разів)

збільшення вмісту гему і гемопротейнів у сироватці крові через 0,5 год після ін'єкції гліцеролу є наслідком вивільнення в кров міоглобіну з м'язів і гемолізу еритроцитів, що характерно для гліцерольної моделі рабдоміолізу [17]. Рівень гемовмісних продуктів у сироватці крові щурів поступово знижувався впродовж доби. Так, через 2 год цей показник перевищував контрольний рівень у 8 разів, а через добу – в 1,8 раза (табл. 1). Поступове зменшення вмісту в сироватці крові гемовмісних продуктів, імовірно, є наслідком транспорту гему в різні тканини та органи.

У кров'яному руслі гемоглобін транспортується до клітини печінки в комплексі з гаптоглобіном [10], вільний гемоглобін швидко окиснюється до метгемоглобіну. Гем, що утворився в результаті дисоціації з метгемоглобіну або метміоглобіну, зв'язується з гемопексином і шляхом рецептор-опосередкованого транспорту надходить у клітини, які мають рецептори гемопексину, в тому числі в клітини паренхіми печінки [22]. При зниженні у крові вмісту гемопексину гем як ліпофільна молекула може надходити в клітини печінки за рахунок неспецифічного транспорту [2].

Через 2 год після введення гліцеролу вміст загального гему в печінці підвищувався і становив 208 % від контрольного рівня (табл. 2). Вміст загального гему збільшується за рахунок зростання його вмісту як у мітохондріальній, так і в постмітохондріальній фракціях (табл. 3). Підвищення вмісту загального гему в постмітохондріальній фракції, імовірно, є наслідком його транспорту з кров'яного русла. Відомо, що гем, який надійшов у клітини печінки шляхом рецептор-опосередкованого транспорту, переноситься до мембран ендоплазматичного ретикулула [10, 22], тоді як гем, захоплений неспецифічно, накопичується в цитозолі [25].

Збільшення вмісту загального гему в мітохондріальній фракції може бути наслідком прискорення біосинтезу гему за рахунок активації ключового ферменту його біосинтезу – δ -АЛК-синтази.

Згідно з нашими даними, активність δ -АЛК-синтази в печінці зростала у 2,7 раза через 0,5 год після введення гліцеролу і зберігалась на високому рівні протягом 2-х год (рис. 1). Як показано в роботі [8], значна кількість гему, синтезованого *de novo*, переноситься з мітохондрій до цитозолу, де включається до складу цитозольних гемопротейнів. За умов порушень процесів внутрішньоклітинного транспорту гему збільшення швидкості його біосинтезу може бути причиною підвищення пулу вільного гему в клітині [14].

Таблиця 1 – Оптична густина сироватки крові щурів у різні терміни після введення гліцеролу ($\Delta A/\text{мг білка}$; $M \pm m$, $n=4-6$)

Параметри		Контроль	Час після дії		
			0,5 год	2 год	24 год
Оптична густина сироватки	в Soret-ділянці ^a	0,033 \pm 0,002	0,815 \pm 0,042*	0,259 \pm 0,025* ^a	0,058 \pm 0,013* ^{ab}
	при 280 нм ^a	0,67 \pm 0,06	0,54 \pm 0,06	0,62 \pm 0,04	0,62 \pm 0,06

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю, ^a – $p < 0,05$ стосовно 0,5 год, ^b – $p < 0,05$ відносно 2 год.

Таблиця 2 – Деякі показники метаболізму гемму в печінці щурів через 2 і 24 год після введення гліцеролу ($M \pm m$, $n=4-6$)

Умови експерименту	Вміст загального гемму, нмоль/мг білка	Активність ТДО		Ступінь насичення ТДО геммом, %	Активність гемоксигенази, нмоль білірубіну/хв на 1 мг білка
		Холофермент, нмоль кінуреніну/год на 1 мг білка	Загальна активність, нмоль кінуреніну/год на 1 мг білка		
Контроль	0,80 \pm 0,07	2,98 \pm 0,13	7,27 \pm 0,20	40,88 \pm 1,00	0,043 \pm 0,005
Гліцерол, 2 год	1,67 \pm 0,21*	7,02 \pm 0,37*	14,16 \pm 0,85*	49,83 \pm 1,68*	0,069 \pm 0,008*
Гліцерол, 24 год	0,72 \pm 0,09	3,66 \pm 0,20* ^a	8,78 \pm 0,62* ^a	41,90 \pm 0,74	0,088 \pm 0,009*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю, ^a – $p < 0,05$ стосовно 2 год.

Таблиця 3 – Деякі показники метаболізму гемму в печінці щурів через 2 год після введення гліцеролу або гліцеролу на фоні попереднього введення циклогексиміду ($M \pm m$, $n=4-6$)

Умови експерименту	Вміст загального гемму			Активність ТДО		Ступінь насичення ТДО геммом, %	Активність гемоксигенази, нмоль білірубіну/хв на 1 мг білка
	Гомогенат, нмоль/мг білка	Мітохондріальна фракція, нмоль/мг білка	Постмітохондріальна фракція, нмоль/мг білка	Холофермент, нмоль кінуреніну/год на 1 мг білка	Загальна активність, нмоль кінуреніну/год на 1 мг білка		
Контроль	0,74 \pm 0,05	1,85 \pm 0,08	0,38 \pm 0,05	2,63 \pm 0,18	6,52 \pm 0,42	40,41 \pm 1,59	0,040 \pm 0,004
Гліцерол	1,67 \pm 0,21*	2,36 \pm 0,22*	0,73 \pm 0,14*	5,88 \pm 0,07*	9,52 \pm 0,16*	61,82 \pm 1,71*	0,065 \pm 0,017*
Циклогексимід + гліцерол	1,05 \pm 0,07*	1,94 \pm 0,18	0,65 \pm 0,10*	3,16 \pm 0,27	7,79 \pm 0,39	40,41 \pm 2,21	0,037 \pm 0,005

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

У цитозолі печінки вільний гем зв'язується зі специфічними гемозв'язувальними білками, в тому числі з апобітком ТДО [13]. У печінці щурів ТДО існує у двох формах – у вигляді неактивного апоферменту та апоферменту, зв'язаного з гемом (холоферменту), причому співвідношення між формами змінюється залежно від вмісту в клітині вільного гемму, у зв'язку з чим ступінь насичення ТДО геммом розглядають як показник рівня вільного гемму в клітинах печінки [5].

У нашій серії експериментів активність холоферменту, загальна активність і ступінь насичення ТДО геммом підвищувались через 2 год після ін'єкції гліцеролу (табл. 2). Зростання ступеня насичення ТДО геммом свідчить про накопичення вільного гемму в клітинах печінки.

Введення циклогексиміду за 0,5 год до ін'єкції гліцеролу блокувало збільшення активності δ -АЛК-синтази як через 0,5, так і через 2 год (рис. 1). Гальмування активності ферменту в умовах попереднього введення циклогек-

симіду свідчить про те, що причиною зростання активності δ -АЛК-синтази при дії гліцеролу є активація синтезу ферменту de novo. Збільшення швидкості синтезу ферменту може бути пов'язане з порушенням функціонування ланцюга переносу електронів у мітохондріях, що, як показано в роботі [17], характерно для гліцерольної моделі рабдоміолізу. Відомо, що порушення клітинного дихання, а також зниження у клітинах вмісту АТР, призводить до активації синтезу δ -АЛК-синтази [12].

Попереднє введення циклогексиміду попереджало і зростання вмісту загального гемму в мітохондріальній фракції печінки, але не впливало на вміст загального гемму в гомогенаті та постмітохондріальній фракції через 2 год після ін'єкції гліцеролу (табл. 3). Ці дані, а також дані про гальмування підвищення активності δ -АЛК-синтази (рис. 1), свідчать про те, що попереднє введення циклогексиміду запобігає збільшенню швидкості біосинтезу гемму, але не впливає на його транспорт з кров'яного русла в печінку за умов введення гліцеролу.

В умовах попереднього введення циклогексиміду активність холоферменту, загальна активність і ступінь насичення ТДО гемом через 2 год після ін'єкції гліцеролу не відрізнялись від контрольних значень (табл. 3). Блокування підвищення загальної активності ферменту свідчить про те, що гліцерол спричиняє індукцію апоферменту ТДО. Відомо, що синтез апобілка ТДО активується при накопиченні у клітині вільного гему [20]. Нормалізація ступеня насичення ТДО в умовах попереднього введення циклогексиміду вказує на те, що в гліцерольній моделі рабдоміолізу посилений транспорт гему з кров'яного русла не є основною причиною накопичення у клітинах печінки вільного гему. Це, а також дані про збереження вмісту гемопексину в сироватці крові при введенні гліцеролу на рівні контрольних тварин (табл. 1), дає змогу припустити, що при введенні гліцеролу гем надходить у печінку шляхом рецептор-опосередкованого транспорту. Причиною накопичення у клітинах печінки вільного гему, що спостерігається через 2 год після введення гліцеролу, ймовірно, є збільшення швидкості біосинтезу гему за рахунок індукції δ -АЛК-синтази.

Відомо, що вільний гем є активним про-оксидантом і його накопичення в клітинах призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення і, як наслідок, розвитку оксидативного стресу [9, 14]. Захисну роль від окиснювального пошкодження клітин вільним гемом відіграє індукція ГО-1 – ключового ферменту деградації гему [14].

У наших експериментах гемоксигеназна активність збільшувалася через 2 год після введення гліцеролу в 1,6 раза і зберігалася на високому рівні протягом доби (табл. 2). Попереднє введення циклогексиміду запобігало зростанню активності ферменту (табл. 3). Останнє свідчить про те, що введення гліцеролу спричиняє індукцію ГО. У печінці присутні індукцибельна (ГО-1) і конститутивна (ГО-2) ізоформи ферменту. Підвищення гемоксигеназної активності відображає індукцію ГО-1, оскільки показано, що ГО-2 не індукується в цих умовах [14]. Відомо, що накопичення в клітинах вільного гему, як і зв'язування комплексів гем-гемопексин з рецепторами на плазматичній мембрані клітин печінки призводить до активації транскрипції гена ГО-1 [7, 14]. Припускається, що одним з механізмів індукції ГО вільним гемом є утворення активних форм кисню при його зв'язуванні з регуляторними сайтами молекули ГО-2 [14].

Індукція ГО, поряд з індукцією внутрішньо-клітинних гем-зв'язувальних білків, призводить

до зниження вмісту в клітинах вільного гему і підвищення рівня продуктів гемоксигеназної реакції: антиоксиданта – білірубину і сигнальної молекули – монооксиду вуглецю. У зв'язку з цим, індукцію ГО-1 розглядають як складову частину загальної адаптивної відповіді клітини на пошкодження вільним гемом [14].

Через 24 год після введення гліцеролу активність δ -АЛК-синтази не відрізнялася від контрольних значень (табл. 1). Нормалізація активності δ -АЛК-синтази, період напівжиття якої становить 0,5-2 год [2], у даному випадку може бути результатом блокування індукції ферменту вільним гемом. Встановлено, що гем може блокувати індукцію ферменту, спричинену різними агентами, за рахунок зниження стабільності мРНК ферменту, а також інгібування транспорту попередника δ -АЛК-синтази із цитоплазми в мітохондрії [6].

Нормалізація активності δ -АЛК-синтази і збільшення активності ГО призводили до зменшення вмісту в печінці загального і вільного гему (табл. 1). Активність холоферменту і загальна активність ТДО через 24 год були достовірно нижчими, ніж через 2 год, але перевищували контрольний рівень (табл. 1). Отже, нормалізація насичення ТДО гемом через добу після введення гліцеролу є наслідком як деградації гему в гемоксигеназній реакції, так і індукції апоферменту ТДО.

Враховуючи отримані дані, а також дані літератури, ми запропонували таку схему регуляції метаболізму гему та гемопротейнів у печінці за умов гліцерольної моделі рабдоміолізу (рис. 2). У гліцерольній моделі рабдоміолізу гем, що потрапив у кров у результаті

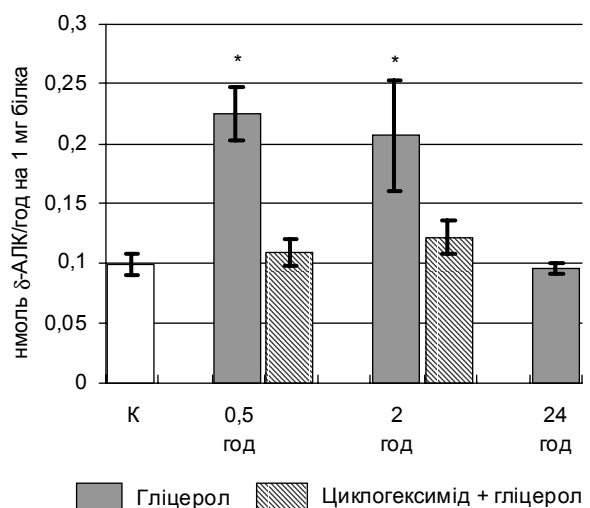


Рис. 1 Активність δ -АЛК-синтази в печінці щурів через 0,5, 2 і 24 год після введення гліцеролу, а також через 0,5 і 2 год після введення гліцеролу на фоні попереднього введення циклогексиміду ($M \pm m$, $n=4-6$, $p < 0,05$ відносно контролю).

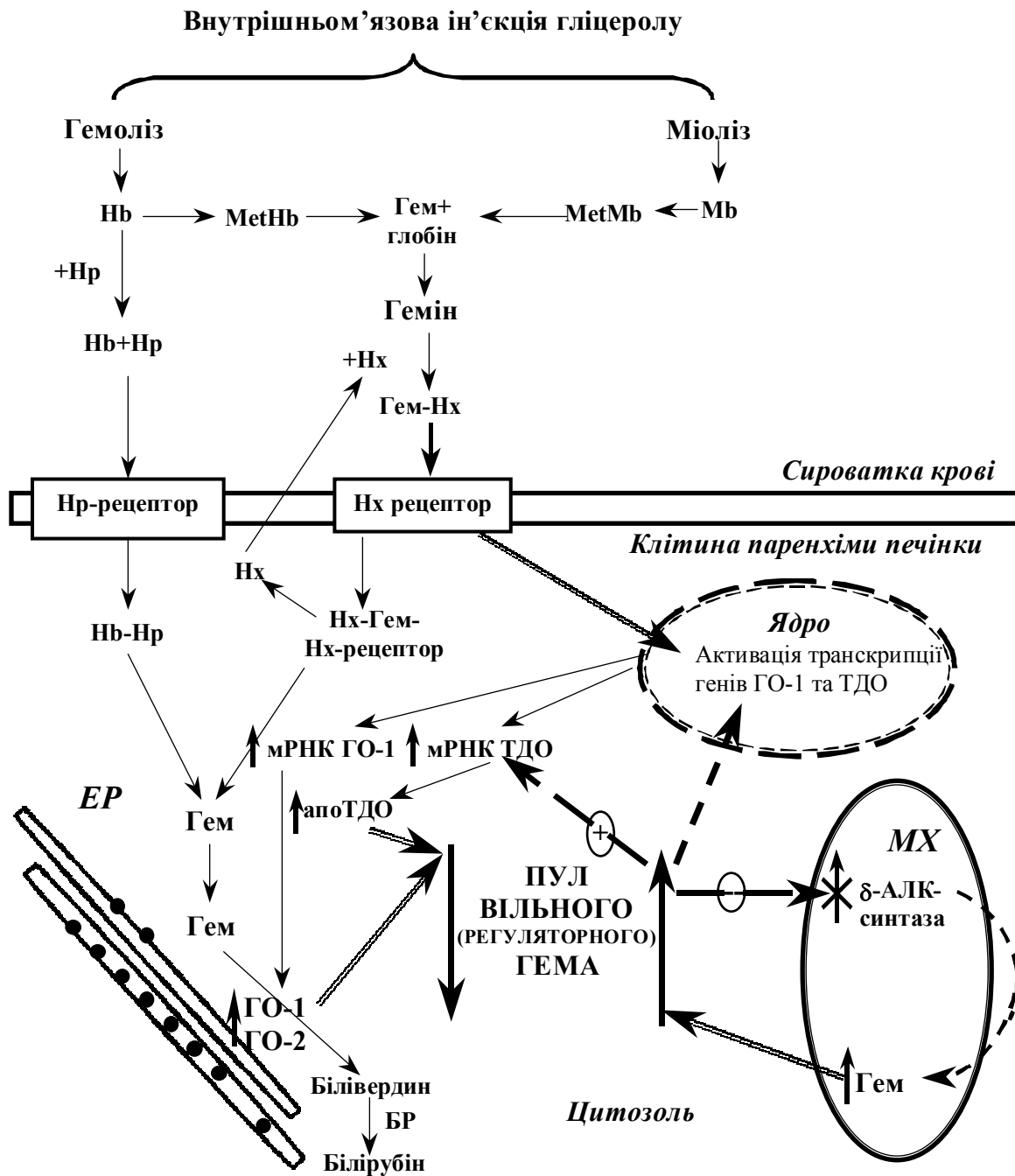


Рис. 2. Регуляція метаболізму гему і гемопротеїнів у клітинах печінки щурів у гліцерольній моделі рабдоміолізу: Hb – гемоглобін, MetHb – метгемоглобін, Mb – міоглобін, MetMb – метміоглобін, Hx – гемопексин, Hp – гаптоглобін, MX – мітохондрії, ER – ендоплазматичний ретикулум, ГО – гемоксигеназа, ТДО – триптофан-2,3-діоксигеназа, БР – білівердинредуктаза, “+” – стабілізація мРНК, “-” – гальмування індукції.

м'язової деструкції і лізису еритроцитів, надходить у клітини печінки шляхом рецепторопосередкованого транспорту і переноситься до ендоплазматичного ретикулума. Індукція δ-АЛК-синтази призводить до підвищення вмісту загального гему в мітохондріях і накопичення у клітинах вільного гему, що спостерігається через 2 год після ін'єкції гліцеролу. Разом із тим, цей же час спостерігається індукція

гемоксигенази і гемозв'язувального білка – ТДО. Збільшення у клітині вмісту вільного гему нормалізує активність δ-АЛК-синтази через добу. Вміст вільного гему в клітинах печінки при цьому нормалізується, можливо, за рахунок як його руйнування в гемоксигеназній реакції, так і зв'язування з апоферментом ТДО.

Таким чином, можна припустити, що в гліцерольній моделі рабдоміолізу підвищення

вмісту загального гему в печінці щурів є наслідком як транспорту гему з кров'яного русла, так і індукції ключового ферменту його біосинтезу – δ -АЛК-синтази, тоді як зростання вмісту вільного гему здійснюється за рахунок

лише індукції δ -АЛК-синтази (рис. 2). Індукція гемоксигенази і апоферменту ТДО призводить до нормалізації вмісту як загального, так і вільного гему через добу після введення гліцеролу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973. – 144 с.
2. Калиман П.А., Баранник Т.В. Метаболизм гема и оксидативный стресс // Укр. биохим. журн. – 2001. – 73, № 1. – С. 5-14.
3. Калиман П. А., Беловецкая И.В. Влияние хлорида кобальта на активность ключевых ферментов метаболизма гема в печени крысы // Биохим. – 1986. – **55**, вып. 8. – С. 1302-1308.
4. Лемешко В.В., Калиман П.А. Изменения содержания цитохромов с и а(а₃) в митохондриях крыс при гипертиреозе // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1980. – **89**, № 2. – С. 174-176.
5. Badawy A., Evans M. The effects of chemical porphrogens and drugs on the activity of rat liver tryptophan pyrrolase // Biochem. J. – 1973. – **136**, № 4. – P. 885-892.
6. Cable E., Miller T., Isom H. Regulation of heme metabolism in rat hepatocytes and hepatocyte cell lines: delta-aminolevulinic acid synthase and heme oxygenase are regulated by different heme-dependent mechanisms // Arch. Biochem. Biophys. – 2000. – **384**, № 15. – P. 280-295.
7. Eskew J.D., Vanacore R.M., Sung L. et al. Cellular protection mechanism against extracellular heme // J. Biol. Chem. – 1999. – **274**, № 8 – P. 638-648.
8. Grandchamp B., Bissell D., Licko V., Schmid R. Formation and disposition of newly synthesized heme in adult rat hepatocytes in primary culture // J. Biol. Chem. – 1981. – **256**, № 22. – P. 11677-11683.
9. Gutteridge J.M.S., Smith A. Antioxidant protection by haemopexin of haem – stimulated lipid peroxidation // Biochem J. – 1988. – **256**, № 15. – P. 861-865.
10. Higa Y., Oshiro S., Kino K. et al. Catabolism of globin-haptoglobin in liver cells after intravenous administration of hemoglobin-haptoglobin to rats // J. Biol. Chem. – 1981. – **256**, № 23. – P. 12322-12328.
11. Hrkal Z., Muller-Ebrhard U. Partial characterization of the heme-binding serum glycoproteins rabbit and human hemopexin // Biochemistry. – 1971. – **10**, № 10. – P. 1746-1750.
12. Li B., Holloszy J., Semenkovich G. F. Respiratory uncoupling induces aminolevulinic acid synthase expression through a nuclear respiratory factor-1-dependent mechanism in HeLa Cells // J. Biol. Chem. – 1999. – **274**, № 25. – P. 17534-17540.
13. Maines M. D. Developments in the regulation of heme metabolism and their implication // CRC Crit. Rev. Toxicol. 1984. – **12**, № 3. – P. 241-314.
14. Maines M.D. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1997. – **37**. – P. 517-554.
15. Marver H.S., Collins A., Thshudi D.R. Aminolevulinic acid synthetase. I. Studies in liver homogenate // J. Biol. Chem. – 1966. – **241**, № 19. – P. 4323-4329.
16. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem. – 1959. – **31**, № 5. – P. 964-966.
17. Nath K.A., Grande J.P., Croatt A.J. et al. Intracellular targets in heme protein-induced renal injury // Kidney International. 1998. – **53**, № 1. – P. 100-108.
18. Nath K., Haggard J., Croatt A. et al. The indispensability of heme oxygenase-1 in protecting against acute heme protein-induced toxicity in vivo // American J. Pathology. – 2000. – **156**, № 5 – P. 1527-1535.
19. Paul K.G., Theorell H., Akesson A. The molar light absorption of pyridine ferroprotoporphyrin (Pyridine haemochromogen) // Acta Chem. Scand. – 1953. – **7**. – P. 1284-1287.
20. Ren S., Correia M.A. Heme: a regulator of rat hepatic tryptophan-2,3-dioxygenase? // Arch. Biochem. Biophys. 2000. – **377**, № 1. P. 195-203.
21. Sardana M.K., Sassa S., Kappas A. Hormonal regulation of heme oxygenase induction in avian hepatocyte culture // Biochem. Pharmacol. – 1985. – **34**, №1 6. – P. 2937-2944.
22. Smith A., Morgan W. Hemopexin-mediated transport of heme into isolated rat hepatocytes // J. Biol. Chem. – 1981. – **256**, № 21. – P. 10902-10909.
23. Smith A. Intracellular distribution of haem after uptake by different receptors/ Haem-haemopexin and haem asialo- haemopexin // Biochem J. – 1985. – **231**, № 3. – P. 663-669.
24. Vanholder R., Sever H., Ereck E., Lameire N. Rhabdomyolysis // J. Am. Soc. Nephrol. – 2000. – **11**. – P. 1553-1561.
25. Worthington M., Cohn S., Miller S. et al. Characterization of human plasma membrane heme transporter in interstitial and hepatocyte cell lines// Am. J. Physiol. Gastrointest. and Liver. Physiol. – 2001. – **250**. – P. 1172-1177.

РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ГЕМА И ГЕМОПРОТЕИНОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАБДОМИОЛИЗЕ

Е.В. Стрельченко, Н.Н. Иншина, П.А. Калиман
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА

Резюме

Изучены спектр поглощения сыворотки крови в Soret-области и при длине волны 280 нм, активность δ -аминолевулинатсинтазы, гемоксигеназы, триптофан-2,3-диоксигеназы и содержание общего гема в печени крыс при экспериментальном рабдомиолизе (глицерольная модель). После введения глицерола наблюдались накопление гемсодержащих продуктов в сыворотке крови, возрастание содержания общего и свободного гема, повышение активности δ -аминолевулинатсинтазы, гемоксигеназы и триптофан-2,3-диоксигеназы в печени. Предварительное введение циклогексимида блокировало повышение активности исследуемых ферментов, а также возрастание содержания общего гема в митохондриальной фракции, но не влияло на увеличение содержания общего гема в гомогенате и постмитохондриальной фракции печени через 2 ч после введения глицерола. Обсуждено механизмы регуляции метаболизма гема в печени крыс в условиях экспериментального рабдомиолиза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рабдомиолиз, гем, δ -аминолевулинатсинтаза, гемоксигеназа, триптофан-2,3-диоксигеназа, глицерол.

REGULATION OF HEME AND HEMOPROTEIN METABOLISM IN THE RAT LIVER UNDER EXPERIMENTAL RHABDOMYOLISIS

K.V. Strel'chenko, N.M. Inshyna, P.A. Kaliman
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN

Summary

The absorption spectrum of blood serum in Soret-region and at the wave length 280 nm, δ -aminolevulinat synthase, heme oxygenase, tryptophan-2,3-dioxygenase activities, and the total heme content in rat liver under experimental rhabdomyolysis (glycerol model) have been investigated. The glycerol injection caused a considerable accumulation of heme-containing products in the serum and the increase of the total and free heme content in the liver. Activities of δ -aminolevulinat synthase, heme oxygenase, and total activities of tryptophan-2,3-dioxygenase are increased too. Preliminary administration of cycloheximide fully prevented the increasing of studied enzymes activities and changes of total heme content in mitochondrial fraction and did not block the increasing of total heme content in liver homogenate and postmitochondrial fraction in 2 h after glycerol administration. The mechanisms of heme and hemoprotein regulation in rat liver in glycerol model of rhabdomyolysis are discussed.

KEY WORDS: heme, rhabdomyolysis, δ -aminolevulinat synthase, heme oxygenase, tryptophan-2,3-dioxygenase, glycerol.

Отримано 02.01.2003 р.

Адреса для листування: П.А. Каліман, кафедра біохімії, Харківський національний університет ім. В.П. Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна.

ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В КРОВІ ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ЕЙЗЕНМЕНГЕРА

Ю.І. Губський, К.М. Амосова, Л.Ф. Конопльова, Є.М. Задорін
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Вперше проведено вивчення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та загальної антиокиснювальної активності (АОА) плазми та еритроцитів крові хворих з вродженими вадами серця із збільшеним кровообігом (синдром Ейзенменгера). Показано, що у хворих із синдромом Ейзенменгера з серцевою недостатністю NYHA I-II класів, а також III-IV класів, значно активуються процеси ПОЛ в плазмі та еритроцитах крові. При цьому також знижується загальна АОА плазми крові. Зміна вільнорадикальних процесів, можливо, пов'язана з вираженим пошкодженням судин легенів та, в свою чергу, призводить до погіршення стану ендотелію цих судин та дистрофії органів, що розвивається в умовах серцевої недостатності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: синдром Ейзенменгера, перекисне окиснення ліпідів, загальна антиокиснювальна активність.

ВСТУП. В нормі перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) перебігає на стаціонарному, досить низькому рівні завдяки наявності захисної антиоксидної системи, що інгібує ПОЛ. Активація реакцій ПОЛ є одним з фундаментальних біологічних механізмів пошкодження біоструктур і розвитку клітинної патології при дії пошкоджувальних факторів різного генезу, особливо за умов іонізуючої радіації, чужорідних хімічних сполук – ксенобіотиків, при гіпоксії, атеросклерозі, злоякісному рості [4, 6, 9, 14, 15]. При інтенсифікації вільнорадикального окиснення за умов патологічних станів відбувається порушення структури та функції біомембран, проникності мембран для різних субстратів, метаболітів, іонів, зокрема, кальцію – важливого регулятора клітинного метаболізму, що здатний призводити до підвищення судинного тонуусу [4, 5]. Відомо, що деякі продукти вільнорадикального окиснення ліпідів (наприклад, лейкотрієни і подібні сполуки) викликають скорочення гладеньких м'язів, порушення проникності судин і здатні спричинити спазм коронарних судин, що було досліджено у хворих на стенокардію та атеросклероз [1, 2, 6, 13].

З'являється все більше даних про можливість підвищення ефективності лікування таких хворих шляхом включення в їх терапію анти-

© Ю.І. Губський – чл.-кор. АМН України, д.мед.н., проф.,
К.М. Амосова – чл.-кор. АМН України, д.мед.н., проф.,
Л.Ф. Конопльова – д.мед.н., проф., Є.М. Задорін, 2003.

оксидантів [6, 10, 12, 13]. Разом із тим, стан вільнорадикальних процесів та антиокиснювального захисту у хворих з вродженими вадами серця із збільшеним кровообігом (синдром Ейзенменгера) до теперішнього часу залишається невивченим.

Метою роботи було вивчення зміни стану ПОЛ та загальної антиокиснювальної активності (АОА) плазми й еритроцитів крові у хворих із синдромом Ейзенменгера з різним ступенем важкості серцевої недостатності (СН).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для досліджень були 26 хворих з уродженими вадами серця у фазі синдрому Ейзенменгера з СН NYHA I-II класів, а також III-IV класів. Хворі перебували на лікуванні в кардіологічному центрі ЦМКЛ. Більшість пацієнтів (76,9 %) становили жінки, їх середній вік (18,2±3,8) роки. Діагноз встановлювали на основі клінічних, інструментальних та лабораторних методів дослідження. У всіх хворих тиск в легеневій артерії, за даними доплерівського дослідження транстрикуспідального кровотоку, складав у середньому (65,4±37,4) мм рт. ст. Контрольну групу склали 23 практично здорових осіб того ж віку, серед яких більшість жінок (73,8 %). Забір крові проводили в клініці з дотриманням відповідних правил. Розділяли еритроцити та плазму крові методом [3]. Загальну АОА плазми крові вивчали з використанням ліпопротеїнів жовтка *in vitro* методом [11]. Дослідження рівня

ПОЛ – НАДФН-залежного (НЗП), аскорбат-залежного (АЗП) і спонтанного ПОЛ (неініційованого) в плазмі та еритроцитах крові – проводили методом [7]. Дані обробляли варіаційно-статистичним методом з використанням критерію t-Стюдента та коефіцієнта кореляції "r".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В результаті проведених досліджень було показано, що у хворих із синдромом Ейзенменгера з СН NYHA I-II класів, а також III-IV класів, значно активуються процеси ПОЛ у плазмі та еритроцитах крові (рис. 1-2).

У здорових осіб неферментативне ПОЛ у плазмі венозної крові складає $(1,43 \pm 0,16)$ ммоль МДА/л, а неініційоване (спонтанне) – $(2,60 \pm 0,20)$ ммоль МДА/л.

Нашими дослідженнями було показано, що у хворих із синдромом Ейзенменгера з СН NYHA I-II класів аскорбат-залежне ПОЛ у плазмі крові хворих активувалося у 2,9 раза, а неініційоване ПОЛ – в 1,6 раза, порівняно з контрольною групою ($P_k < 0,01$, $P_k < 0,05$ відповідно). Аскорбат-залежне ПОЛ у плазмі крові хворих із синдромом Ейзенменгера NYHA I-II класів складало $(4,13 \pm 0,16)$ ммоль МДА/л, а неініційоване – $(4,27 \pm 0,63)$ ммоль МДА/л.

У хворих із синдромом Ейзенменгера, ускладненим СН NYHA III-IV класів, відбувалась більш значна активація ПОЛ в плазмі крові. При цьому неферментативне (аскорбат-залежне) ПОЛ активувалося в 3,7 раза, а неініційоване (спонтанне) – в 1,7 раза, порівняно з показниками контрольної групи. Аскорбат-залежне ПОЛ складало $(5,25 \pm 0,66)$ ммоль МДА/л, а неініційоване – $(4,60 \pm 0,71)$ ммоль МДА/л.

Проведено дослідження накопичення продуктів ПОЛ в мембранах еритроцитів венозної крові хворих із синдромом Ейзенменгера (рис. 2). В еритроцитах крові відбувалося ферментативне (НАДФН-залежне), неферментативне (аскорбат-залежне) та неініційоване (спонтанне) ПОЛ. Дослідження показали, що у здорових осіб неініційоване ПОЛ в еритроцитах крові складало $(1,77 \pm 0,21)$ ммоль МДА/л, НАДФН-залежне – $(4,13 \pm 0,17)$ ммоль МДА/л; аскорбат-залежне ПОЛ – $(3,95 \pm 0,36)$ ммоль МДА/л.

У хворих із синдромом Ейзенменгера із СН NYHA I-II класів достовірно активувалося неініційоване ПОЛ в еритроцитах крові в 1,7 раза ($p < 0,05$), порівняно з контрольною групою, і складало $(3,00 \pm 0,47)$ ммоль МДА/л. НАДФН-залежне і аскорбат-залежне ПОЛ при цьому вірогідно не змінилося. Не змінилося також відношення між АЗП та НЗП і становило $1,03 \pm 0,15$ (усі $p > 0,05$).

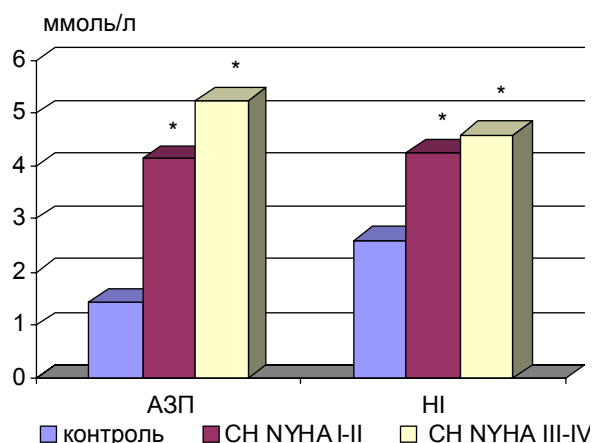


Рис. 1. Вміст МДА у плазмі венозної крові хворих із синдромом Ейзенменгера.

Примітка. * – $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

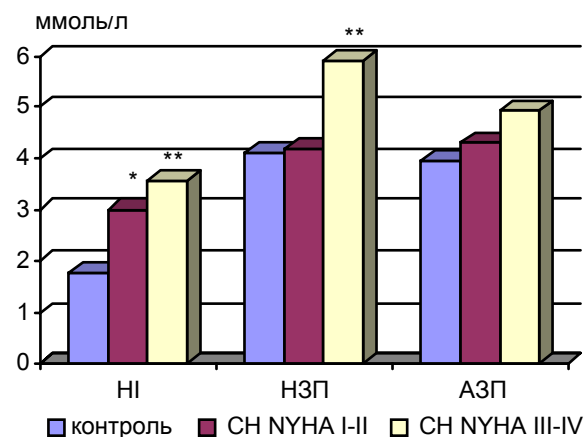


Рис. 2. Вміст МДА в еритроцитах венозної крові хворих із синдромом Ейзенменгера.

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, порівняно з контрольною групою.

У хворих із синдромом Ейзенменгера із СН NYHA III-IV класів, порівняно із здоровими, неініційоване ПОЛ в еритроцитах крові достовірно збільшувалося у 2 рази ($p < 0,05$), ферментативне – в 1,4 раза ($p < 0,05$), неферментативне (АЗП) суттєво незмінювалось ($p > 0,05$). Відношення між АЗП та НЗП складало $0,85 \pm 0,06$. Дослідження показали, що вища активація процесів ПОЛ відбувається при збільшенні вираження СН.

Відомо, що зміна концентрації антиоксидантів і ПОЛ в організмі людини тісно взаємопов'язані з системою регуляції клітинного метаболізму. Антиоксиданти нормалізують процеси ПОЛ, сприяють нормалізації структури і функції біомембран [8, 10, 15]. Активація процесів ПОЛ в плазмі та еритроцитах крові хворих із синдромом Ейзенменгера дозволила припустити зміну загальної АОА плазми крові. Нами було проведено дослідження АОА плазми крові хворих із синдромом Ейзенменгера (табл. 1).

Із результатів нашого дослідження видно, що у хворих із синдромом Ейзенменгера зни-

Таблиця 1 – Загальна антиокиснювальна активність плазми крові хворих із синдромом Ейзенменгера (%)

Контроль	Синдром Ейзенменгера	
	NYHA I-II класів	NYHA III-IV класів
73,30±1,68 (n=23)	62,00±1,22 (n=9) $p_{1,2} < 0,05$	57,30±3,36 (n=12) $p_{1,3} < 0,05$

жена загальна АОА плазми крові, що корелює з активацією процесів ПОЛ в плазмі та еритроцитах цих хворих. У здорових осіб загальна АОА плазми крові складає (73,30±1,68) %. У хворих із синдромом Ейзенменгера із СН NYHA I-II класів загальна АОА плазми крові складає (62,00±1,22) %, а NYHA III-IV класів – (57,30±3,36) %, що також було значно нижче, ніж в контрольній групі ($p < 0,05$).

Для встановлення зв'язку між процесами ПОЛ і загальною антиокиснювальною активністю визначали коефіцієнт кореляції "r". Величина і знак коефіцієнта виражають міру та направлення кореляції. При порівнянні змін АОА та процесів ПОЛ у плазмі крові хворих із синдромом Ейзенменгера виявлено зворотно пропорційну залежність з високим ступенем вираження кореляції, особливо при порівнянні можливостей системи антиоксидного захисту та неініційованої спонтанної ліпопероксидації в плазмі крові хворих із СН. Ступінь залежності між АОА та неініційованим ПОЛ є зворотно пропорційним і підсилюється залежно від тяжкості захворювання. Кореляційний коефіцієнт між АОА та неініційованим ПОЛ у хворих із синдромом Ейзенменгера із СН NYHA I-II класів складає -0,58, а NYHA III-IV класів – -0,71. Коефіцієнт змінюється від -0,58 до -0,71, що вказує на виражений ступінь кореляції. Ступінь залежності між АОА та АЗП також є зворотно пропорційним і підсилюється залежно від тяжкості захворювання. Кореляційний коефіцієнт між АОА та АЗП у хворих із синдромом Ейзенменгера із СН NYHA I-II класів складає -0,32, а NYHA III-IV класів – -0,57, що вказує на виражений ступінь кореляції.

Таким чином, із проведених досліджень видно, що у хворих із синдромом Ейзенменгера знижується загальна АОА плазми крові, а також значно активуються процеси ПОЛ в

плазмі та еритроцитах крові. Вища активація процесів ПОЛ відбувається при збільшенні вираження СН. Причиною підвищення ПОЛ може бути активація ферментів, що відповідають за утворення перекису і збільшення кількості ініціаторів ПОЛ, а також зниження активності ферментів антиоксидного захисту, які порушують чи попереджають утворення перекису. В усіх випадках, незалежно від причини інтенсифікації ПОЛ, зміна швидкості окиснення пов'язана із зменшенням кількості біоантиоксидантів, що також було показано за допомогою визначення коефіцієнтів кореляції. Виявлено зворотно пропорційну залежність з високим ступенем вираження кореляції, особливо при порівнянні можливостей системи антиоксидного захисту та неініційованого (спонтанного) ПОЛ в плазмі крові хворих із СН. Оскільки у хворих із синдромом Ейзенменгера знижена загальна АОА плазми крові, це свідчить про те, що при цьому захворюванні сталося виснаження систем антиокиснювального захисту, що могло призвести до активації ПОЛ. Підвищення ПОЛ може мати значення як для виникнення пошкодження судин малого кола кровообігу, так і для прогресування СН. Зі збільшенням ступеня СН ці процеси також наростають, що вже відзеркалює дистрофічні зміни з боку внутрішніх органів.

ВИСНОВКИ. 1. У хворих із синдромом Ейзенменгера з СН NYHA I-II класів, а також III-IV класів, значно активуються процеси ПОЛ в плазмі та еритроцитах крові.

2. Вища активація процесів ПОЛ відбувається при збільшенні вираження СН.

3. У хворих із синдромом Ейзенменгера знижується загальна АОА плазми крові, що свідчить про порушення механізмів компенсації порушень вільнорадикальних процесів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н. Клиническая кардиология. – К., 1998. – 1. – 710 с.
2. Амосова Е.Н. Сердечная недостаточность: от новых аспектов патогенеза к совершенствованию диагностики и новым целям лечения // Лікування та діагностика. – 2000. – № 2. – С. 7-12.

3. Ангельські С., Якубовські З., Домінічак М.Г. Клінічна біохімія. – Сопот, 1998. – 452 с.

4. Архипенко Ю.В., Писарев В.А., Каган В.Е. Модификация ферментной системы транспорта кальция в саркоплазматическом ретикулуме при перекисном окислении липидов. Системы генерации и

регуляции ПОЛ в скелетной и сердечной мышцах // Биохимия. – 1983. – **48**, вып. 8. – С. 1261-1268.

5. Белоконь Н.А., Подзолков В.П. Врожденные пороки сердца. – М.: Медицина, 1991. – 350 с.

6. Бурлакова Е.Б. Молекулярные механизмы действия антиоксидантов при лечении сердечно-сосудистых заболеваний // Кардиология. – 1980. – № 8. – С. 48-52.

7. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 243 с.

8. Ганс Банкл. Врожденные пороки сердца и крупных сосудов. – М.: Медицина, 1980. – 310 с.

9. Губский Ю.И. Регуляция перекисного окисления липидов в биологических мембранах // Биохимия животных и человека. – 1978. – 2. – С. 72-83.

10. Губський Ю.І., Юрженко Н.М. Антиоксидантні властивості препаратів 1,4-дигідропіридинового ряду // Одес. Мед. журн. – 1998. – №4. – С. 66-70.

11. Клебанов Г.Н., Бабенко И.В., Теселкин Ю.О.

и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов // Лаб. дело. – 1988. – № 5. С. 59-60.

12. Коноплева Л.Ф., Шевчук С.Г., Карпенко В.В. и др. Изменение гемодинамики большого и малого круга кровообращения у больных с митральным пороком сердца и первичной легочной гипертензией под влиянием дифференцированного лечения // Врачеб. дело. – 1991. – № 10. – С. 50-52.

13. Кудрин А.Н., Смолинский В.С., Коган А.Х., Абиндер А.А. Антиоксиданты в терапии экспериментальной ишемии миокарда и ишемической болезни сердца // Кардиология. – 1988. – № 7. – С. 115-120.

14. Hess M.L., Manson N.H. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury // J. Moll. Cell. Cardiol. – 1984. – **16**. – P. 969-985.

15. Kuhn H., Belkner J., Wiesner R. et al. Structure elucidation of oxygenated lipids in human atherosclerotic lesions // Eicosanoids. – 1992. – **5**. – P. 17-22.

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ СИНДРОМОМ ЭЙЗЕНМЕНГЕРА

Ю.И. Губский, Е.Н. Амосова, Л.Ф. Коноплева, Е.М. Задорин
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Впервые проведено изучение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общей антиокислительной активности (АОА) плазмы и эритроцитов крови больных с врожденными пороками сердца с увеличенным кровообращением (синдром Эйзенменгера). Показано, что у больных из синдромом Эйзенменгера с сердечной недостаточностью NYHA I-II классов, а также III-IV классов, значительно активируются процессы ПОЛ в плазме и эритроцитах крови. При этом также снижается общая АОА плазмы крови. Изменение свободнорадикальных процессов, возможно, связано с выраженным повреждением сосудов легких и, в свою очередь, приводит к ухудшению состояния эндотелия этих сосудов и дистрофии органов, что развивается в условиях сердечной недостаточности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синдром Эйзенменгера, перекисное окисление липидов, общая антиокислительная активность.

FREE RADICAL PROCESSES IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH EYZENMENGER'S SYNDROME

Yu.I. Gubskiy, K.M. Amosova, L.F. Konoplyova, Ye.M. Zadorin
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET'S

Summary

Study of lipid peroxidation processes and general antioxidizing activity of plasma and blood erythrocytes of the patients with congenital heart disease (Eyzenmenger's Syndrome) were carried out for the first time. It was shown, that in the patients with Eyzenmenger's Syndrome with intimate NYHA insufficiency of I-II class as well as III-IV classes the lipid peroxidation processes in plasma and blood erythrocytes are considerably activated. Thus, general antioxidizing activity of blood plasma also is reduced. The change of free-radical processes, probably, is connected with the expressed damage of lung vessels, and, in turn, can result in deterioration of vessel endothelium status and organs distrophy, which develop under the conditions of heart insufficiency.

KEY WORDS: Eyzenmenger's Syndrome, lipid peroxidation, general antioxidizing activity.

Отримано 16.12.2002 р.

Адреса для листування: Е.М. Задорін, пр. Правди, 6а, кв.136, Київ-108, 04108, Україна; e-mail evgeniyzadorin@ukr.net.

ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНИХ ТА АНАЛГЕТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИЦІЇ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ З ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДОМ

І.А. Отрішко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Досліджено гостру токсичність та анальгетичну активність композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом. Результати вивчення гострої токсичності показали, що при поєднанні диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом відзначається різке зниження токсичності композиції, порівняно з диклофенаком натрію: середня летальна доза композиції в 10 разів перевищує даний показник для диклофенаку натрію.

Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом проявляє анальгетичну дію і впливає на периферичний та центральний відділи ноцицептивної системи. У результаті проведених експериментальних досліджень встановлено здатність глюкозаміну гідрохлориду потенціювати анальгетичні властивості диклофенаку натрію.

Висока анальгетична активність та низька токсичність композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом створюють передумови для розробки на її основі нового лікарського засобу для симптоматичного лікування больового синдрому в комплексній терапії хворих з патологією опорно-рухового апарату.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом, анальгетична активність, гостра токсичність.

ВСТУП. Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) – одна з найчисельніших фармакологічних груп, що застосовуються в сучасній клінічній практиці. Завдяки вираженій протизапальній, анальгетичній та жарознижувальній дії, НПЗП знайшли широке застосування майже в усіх галузях медицини [2, 10, 12].

Незважаючи на насиченість фармацевтичного ринку України даними засобами, пошук нових НПЗП та модифікація “класичних” препаратів даної групи не втратили своєї актуальності та є предметом фармакологічних і клінічних досліджень сучасних науковців [1, 9].

Метою даного дослідження стало вивчення гострої токсичності та вивчення впливу композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на ноцицептивну систему тварин в умовах експериментального вивчення периферичного та центрального компонентів анальгетичної дії і обґрунтування існуючих переваг композиції перед власне диклофенаком натрію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З метою визначення середньосмертельної дози (DL_{50}) проведено вивчення гострої токсичності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на двох видах тварин (щурах і мишах)

© І.А. Отрішко, 2003.

при одноразовому введенні досліджуваної композиції за методикою [6].

Для вивчення периферичної анальгетичної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом було обрано модель “оцтовокислих корчів” у мишей. Дана модель, запропонована К. Brune et al. [11], дозволила оцінити вплив композиції на синтез і вивільнення брадикініну, простагландинів (ПГ), серотоніну, гістаміну. Вивчення проводили в 9 серіях дослідів на 54 білих мишах масою 18-22 г по 6 тварин у групі. Корчі викликали 0,6 % розчином оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл на 10,0 г маси тіла тварини, який вводили внутрішньочеревно через 1 год після введення досліджуваних об’єктів. За тваринами спостерігали протягом 20 хв. Анальгетичну активність оцінювали за здатністю речовин зменшувати кількість корчів у дослідній групі мишей, порівняно з контрольною, та виражали у відсотках. Розрахунок проводили за формулою:

$$AA = \frac{C_k - C_d}{C_k} \cdot 100\%,$$

де AA – анальгетична активність, %;

C_k – середня кількість корчів у контрольній групі;

C_d – середня кількість корчів у дослідній групі.

Для вивчення центрального компонента механізму анальгетичної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом використовували модель “електричного подразнення кінцівок мишей”, що характеризується центральним механізмом формування болю [5]. Композицію диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом вводили в широкому діапазоні доз (9-45 мг/кг), диклофенак натрію – в дозах 1,0, 3,0, 5,0 мг/кг, що дозволило розрахувати їх ізоефективні дози. Експеримент проводили за такою схемою:

1. Визначення початкового порога больової чутливості у всіх тварин. На моделі “електричного подразнення кінцівок мишей” використовували імпульсний струм $V=1-100$ і підраховували напругу, що викликала відповідну реакцію (облизування лапок, вистрибування, писк).

2. Пероральне введення дослідним тваринам речовин, що вивчаються, контрольним – розчинника.

3. Реєстрація динаміки порога больової чутливості протягом 5 годин через кожні 30 хв у дослідній і контрольній групах мишей.

4. Аналгетичну активність виражали у відсотках і визначали за здатністю досліджуваних речовин змінювати поріг больової чутливості досліджуваних тварин, порівняно з контрольними. Аналгетичну активність розраховували за формулою:

$$AA = \frac{\Delta V_d - \Delta V_k}{\Delta V_k} \cdot 100\%,$$

де AA – аналгетична активність, %;

ΔV_d – різниця в напрузі, що викликає відповідну реакцію в групі дослідних тварин до та після введення досліджуваних речовин;

ΔV_k – різниця в напрузі, що викликає відповідну реакцію в групі контрольних тварин до і після введення розчинника.

Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вивчення гострої токсичності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при пероральному введенні розпочинали з попередніх досліджень на білих мишах. Кожну дозу випробували на двох тваринах. Спостереження проводили протягом 2-х тижнів. Результати досліджень, представлені в таблиці 1, свідчать про загибель мишей при пероральному однократному введенні композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом в інтервалі доз 3000-5000 мг/кг. Однак отримані дані є

недостатньо інформативними. Для подальшого визначення DL_{50} необхідно було, відповідно до методики, випробувати додатково ще кілька доз, при введенні яких ефект в одній групі тварин повинен перевищувати 50 %, проте не досягати 100 % загибелі, а в інших – бути меншим 50 %, але не 0.

За результатами проведеного експерименту було виділено потрібний інтервал доз (табл. 2) по шкалі, запропонованій авторами з урахуванням попередніх досліджень щодо визначення DL_{50} на мишах.

Отримані дані показали, що величина DL_{50} композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом перебуває в інтервалі доз 3550-4470 мг/кг. Відповідно до методики, найменшою дозою виділеного інтервалу знаходимо по таблиці значення DL_{50} з імовірним інтервалом, що складає 3850 (3120-4570) при пероральному введенні мишам.

Далі було проведено дослідження з визначення DL_{50} композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом для щурів при однократному пероральному введенні. Для вибору досліджуваних доз керувалися отриманими значеннями DL_{50} для мишей. Результати експериментів представлено в таблиці 3.

Результати проведених експериментів свідчать про те, що величина DL_{50} композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при пероральному введенні щурам перебуває в інтервалі 2820-3550 мг/кг, що, відповідно до методики Т.В. Пастушенко, складає 3300 (2720-3870) мг/кг.

Згідно з класифікацією К.К. Сидорова [8], композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при однократному пероральному введенні мишам і щурам належить до класу малотоксичних речовин ($501 \text{ мг/кг} < DL_{50} > 5000 \text{ мг/кг}$).

При порівнянні ізотоксичних доз композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом і власне диклофенаку натрію (табл. 4) встановлено, що величина DL_{50} досліджуваної композиції в 10 разів перевищує даний показник для диклофенаку натрію.

Таким чином, сумісне застосування диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом дозволяє знизити токсичні характеристики диклофенаку натрію. Дане явище можна пояснити з позицій поліпшення метаболітної функції печінки завдяки глюкозаміну гідрохлориду, в комплексному механізмі дії якого наявні антиоксидна, мембраностабілізуюча, протизапальна та анаболічна активності [4].

Оскільки одним із фармакодинамічних ефектів НПЗП є їх аналгетична дія, в ході

Таблиця 1 – Попередні дослідження гострої токсичності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на мишах при пероральному введенні

№ за/п	Доза, мг/кг	Кількість тварин	Ефект, що спостерігається, загибель тварин/кількість мишей
1	1000	2	0/2
2	2500	2	0/2
3	3000	2	1/2
4	4000	2	1/2
5	5000	2	2/2

Таблиця 2 – Підсумкове дослідження гострої токсичності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на мишах при пероральному введенні

№ за/п	Доза, мг/кг	Кількість тварин	Ефект, що спостерігається, загибель тварин/кількість мишей
1	3160	3	0/3
2	3550	3	1/3
3	3980	3	2/3
4	4470	3	2/3
5	5000	3	3/3

Таблиця 3 – Вивчення гострої токсичності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на щурах при пероральному введенні

№ за/п	Доза, мг/кг	Кількість тварин	Ефект, що спостерігається, загибель тварин/кількість мишей
1	2500	3	0/3
2	2820	3	1/3
3	3160	3	1/3
4	3550	3	2/3
5	3980	3	3/3

Таблиця 4 – Порівняльна характеристика показників гострої токсичності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом та диклофенаком натрію

№ за/п	Препарат	Шлях введення	DL ₅₀ , мг/кг на мишах	DL ₅₀ , мг/кг на щурах
1	Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом	Перорально	3850 (3120-4570)	3300 (2720-3870)
2	Диклофенак натрію	Перорально	370 (306-434)	343 (278-407)

експериментальних досліджень представляло інтерес дослідити даний вид активності в досліджуваній композиції. Механізм анальгетичної дії НПЗП включає два компоненти: периферичний і центральний.

Вивчення літературних джерел показало, що анальгетичний ефект НПЗП, спрямований на периферичний механізм формування болю, здійснюється за рахунок їхньої протизапальної дії та інгібування медіаторів болю: серотоніну, кінінів, гістаміну, ПГ і ЛТ [7, 13].

Дані експериментальних досліджень з вивчення периферичної анальгетичної дії представлено в таблиці 5. Порівняльний аналіз отриманих результатів свідчить про те, що за анальгетичною активністю композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом перевищує диклофенак натрію. Більший анальгетичний ефект досягається при меншій дозі диклофенаку натрію в композиції (DE₅₀ композиції, розрахована за диклофенаком натрію, склала 4,3 мг/кг), порівняно із серед-

ньою ефективною дозою власне диклофенаку натрію (5,0 мг/кг). За широтою анальгетичної дії композиція в 1,33 раза перевищує диклофенак натрію.

Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом виявила в експерименті периферичну анальгетичну дію в дозі 39,1 мг/кг, що дозволило припустити наявність центрального компонента в механізмі її анальгетичної дії.

Центральний компонент впливу на ноцицептивну систему здійснюється за рахунок пригнічення в ділянці таламуса міжнейронної передачі больових імпульсів. Для вивчення центрального компонента механізму анальгетичної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом використовували модель "електричного подразнення кінцівок мишей".

Проведені експериментальні дослідження (табл. 6) дозволили встановити середню ефективну дозу композиції за центральною анальгетичною дією, що склала 30,24 мг/кг.

Таблиця 5 – Аналгетична активність композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на моделі “оцтовокислих корчів”

№ за/п	Умови досліджу	DL ₅₀ , мг/кг	Доза, мг/кг	Середня кількість корчів в групі	Аналгетична активність, %	DE ₅₀ за аналгетичною дією, мг/кг	ТІ
1	Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом	3850 (3120-4570)	18,0	39,00±0,68	15,22	39,1 (4,3)*	98,47
			36,0	25,70±3,80	44,13		
			54,0	20,00±1,37	56,52		
			72,0	4,67±1,37	89,80		
2	Диклофенак натрію	370 (306-434)	2,0	39,3±1,7	14,57	5,0	74
			4,0	29,70±2,05	35,43		
			6,0	24,0±3,8	47,80		
			8,0	7,3±1,7	84,13		

Примітка. * – середня ефективна доза DE₅₀, розрахована за диклофенаком натрію.

Таблиця 6 – Аналгетична активність композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на моделі “електричного подразнення кінцівок мишей”

№ за/п	Умови досліджу	DL ₅₀ , мг/кг	Доза, мг/кг	Аналгетична активність, %	DE ₅₀ за аналгетичною дією, мг/кг	ТІ
1	Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом	3850 (3120-4570)	9	24,04	30,24 (3,36)*	127,31
			27	45,96		
			45	68,09		
2	Диклофенак натрію	370 (306-434)	1	12,76	3,90	94,87
			3	42,60		
			5	61,70		

Примітка. * – середня ефективна доза DE₅₀, розрахована за диклофенаком натрію.

Широта терапевтичної дії композиції дорівнює 127,31, що в 1,34 раза перевищує широту терапевтичної дії диклофенаку натрію.

ВИСНОВКИ. 1. Комбіноване застосування диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом дозволяє знизити токсичність диклофенаку натрію. При поєднанні диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом відзначається різке зниження токсичності композиції, порівняно з диклофенаком натрію: середня летальна доза композиції в 10 разів перевищує даний показник для диклофенаку натрію.

2. Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом проявляє аналгетич-

ну дію і впливає на периферичний та центральний відділи ноцицептивної системи.

3. У результаті проведених експериментальних досліджень встановлено феномен потенціювання глюкозаміну гідрохлоридом аналгетичних властивостей диклофенаку натрію.

4. Висока аналгетична активність та низька токсичність композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом створюють передумови для розробки на її основі нового лікарського засобу для симптоматичного лікування больового синдрому в комплексній терапії хворих з патологією опорно-рухового апарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Богачик О., Светличная Н. Анализ фармацевтического рынка нестероидных противовоспалительных средств и анальгетиков-антипиретиков в Украине // Провизор. – 1998. – № 5. – 18 с.

2. Гуобис Г., Юшенкайте Я. Фармакодинамика и фармакокинетика современных нестероидных противовоспалительных средств // Терапевт. арх. – 1981. – 53, № 7. – С. 142-151.

3. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

4. Мисюрева С.В. Поиск и фармакологическое

изучение природных и синтетических флавоноидов, аминокислот и их производных как потенциальных гепатопротекторов: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Купавна, 2001. – 26 с.

5. Мохорт Н.А., Яковлева Л.В., Шаповал О.Н. Поиск и экспериментальное изучение фармакологических веществ, которые предлагаются как ненаркотические анальгетики // В кн.: Доклинические исследования лекарственных средств (Методические рекомендации) / Под ред. А.В. Стефанова – К.: Авиценна, 2002. – С. 327-341.

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. Сигидин Я.А., Шварц Г.Я., Арзамасцев А.П., Либерман С.С. Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов. – М.: Медицина, 1988. – 240 с.

8. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47-57.

9. Трещинский А.И., Гаева Л.В., Глумчер Ф.С. Нестероидные обезболивающие противовоспалительные средства. – К.: Вища школа, 1996. – 80 с.

10. Bollet A.J. Analgesic and anti-inflammatory drugs in the therapy of osteoarthritis // Semin. Arthritis Rheum. – 1980. – **11**. – 130 p.

11. Brune K., Lanz K. Mode of action periferical analgesic // Arzneimittel-Forsch. – 1984. – **34**, № 9a. – P. 1060-1065.

12. Cashman J.N. The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia // Drugs. – 1996. – **52**. – P. 13-23.

13. Vane J.R., Botting R.M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs // Inflamm. Res. – 1995. – № 44. – P. 1-10.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПОЗИЦИИ ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ С ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДОМ

И.А. Отришко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Исследовано острую токсичность и анальгетическую активность композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом. Результаты изучения острой токсичности показали, что при совместном применении диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом отмечается резкое снижение токсичности композиции в сравнении с диклофенаком натрия: средняя летальная доза композиции в 10 раз превышает данный показатель для диклофенака натрия.

Композиция диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом проявляет анальгетическое действие и влияет на периферический и центральный отделы ноцицептивной системы. В результате проведенных экспериментальных исследований установлена способность глюкозамина гидрохлорида потенцировать анальгетические свойства диклофенака натрия.

Высокая анальгетическая активность и низкая токсичность композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом создают предпосылки для разработки на ее основании нового лекарственного препарата для симптоматического лечения болевого синдрома в комплексной терапии больных с патологией опорно-двигательного аппарата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: композиция диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом, анальгетическая активность, острая токсичность.

RESEARCH OF TOXIC AND ANALGESIC PROPERTIES OF THE SODIUM DICLOFENAC WITH GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE COMPOSITION

I.A. Otrishko

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The acute toxicity and analgesic activity of sodium diclofenac with glucosamine hydrochloride composition was investigated in experiment. Results of acute toxicity studying have shown, that in complex using of sodium diclofenac with glucosamine hydrochloride definite reduction of toxicity of the composition was marked in comparison with sodium diclofenac: the average lethal doze of the composition in 10 times exceeds the given parameter for sodium diclofenac.

The sodium diclofenac with glucosamine hydrochloride composition shows analgesic action and influence on peripheral and central parts of nociceptive system. The results of the carried out experimental researches have shown that glucosamine hydrochloride has the potentive ability on analgesic properties of sodium diclofenac.

High analgesic activity and low toxicity of sodium diclofenac with glucosamine hydrochloride composition create preconditions for working out on its basis a new medicines for symptomatic treatment of a painful syndrome in complex therapy of patients with a pathology of musculoskeletal system.

KEY WORDS: sodium diclofenac with glucosamine hydrochloride composition, analgesic activity, acute toxicity.

Отримано 14.01.2003 р.

Адреса для листування: І.А. Отришко, пр. Гагаріна, 40, кв. 6, Харків, 61140, Україна.

МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ ТА ЇХ ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ПРИ ВВЕДЕННІ ПЕНТОКСИФІЛІНУ ТА ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ В ДЕЯКИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ*

С.В. Оксененко¹, П.А. Каліман²
ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ¹,
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗИНА²

Вивчено вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та їх метаболізм в печінці, серці, легенях і нирках щурів. Активацію ПОЛ визначали за динамікою накопичення його продуктів – основ Шифа та за концентрацією субстратів ПОЛ – ізованих подвійних зв'язків. Досліджували такий показник ліпідного обміну, як спектр нейтральних ліпідів та фосфоліпідів.

Отримані результати свідчать про те, що після введення тваринам хлориду кобальту в дозах, які викликають розвиток оксидативного стресу, підвищується рівень ді- та триацилгліцеридів, що, ймовірно, вказує на збільшення потреб у триацилгліцеридів для енергетичного обміну. Крім того, суттєво змінюється фосфоліпідний спектр, що може свідчити про активацію деяких ферментів фосфоліпідного обміну для репарації пошкоджених мембран. Введення за цих умов пентоксифіліну загалом призводило до попередження розвитку стрес-реакції.

Було встановлено, що сам пентоксифілін впливає на метаболізм ліпідів. Це може бути пов'язано з його властивостями пригнічувати синтез фактора некрозу пухлин- α .

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, оксидативний стрес, хлорид кобальту, пентоксифілін.

ВСТУП. Кобальт є широко розповсюдженим мікроелементом, який виконує важливі біологічні функції в організмі [4]. Але в великих дозах він може підвищувати активність ВРО та викликати розвиток оксидативного стресу [7], що відбувається через утворення активних метаболітів кисню та вивільнення Fe^{2+} з гемму за рахунок утворення Со-протопорфірину. Внаслідок цього активується синтез протизапального цитокіну – ФНП- α .

Використання за таких умов антиоксиданта пентоксифіліну, який є інгібітором фосфодіестерази [16], що супроводжується підвищенням рівня цАМФ у клітині, пригніченням синтезу ФНП- α [19], може бути доцільним для фармакологічної корекції запального процесу.

Метою нашого дослідження було встановлення дії пентоксифіліну на метаболізм ліпідів та їх перекисне окиснення за умов розвитку оксидативного стресу, викликаного введенням хлориду кобальту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували щурів-самців лінії Wistar масою 150-180 г, яких утримували у віварії Харківського національного університету ім. В.Н. Кара-

© С.В. Оксененко, П.А. Каліман – д.біол.н, проф., 2003.

зіна. Тварин було поділено на 4 групи. Контроль (I група) – щури, яким вводили фізіологічний розчин. II групі внутрішньочеревно вводили пентоксифілін в дозі 15 мг/100 г маси тіла [2], тварин декапітували через 4 год. У III групі дію іонів кобальту встановлювали після введення хлориду кобальту в дозі 3 мг/100 г маси тіла [6], щурів декапітували через 2 год після ін'єкції. IV група тварин отримувала ін'єкцію пентоксифіліну за 2 год до введення хлориду кобальту, щурів декапітували через 4 год після першої ін'єкції. Усі маніпуляції з тваринами проводили під хлоразно-уретановим наркозом [11].

Тканини органів гомогенізували в фізіологічному розчині. Екстракцію ліпідів проводили за методом [12]. Загальні ліпіди фракціонували методом тонкошарової хроматографії на силі-

* В роботі прийнято такі скорочення і позначення: ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів, ВРО – вільнорадикальне окиснення, ЗФЛ – загальні фосфоліпіди, МГ – моноацилгліцериди, ВХ – вільний холестерол, ДГ – діацилгліцериди, ВЖК – вільні жирні кислоти, ТГ – триацилгліцериди, ЕХ – ефіри холестеролу, ХС – холестерол, ФЛ – фосфоліпіди, НЛ – нейтральні ліпіди, ЛФХ – лізофосфатидилхоліні, СМ – сфінгомієліні, ФХ – фосфатидилхоліні, ФІ – фосфатидилінозитолі, ФС – фосфатидилсерини, ФЕ – фосфатидилетаноламіни, ФК – фосфатидові кислоти, КЛ – кардіоліпіни, ФНП – фактор некрозу пухлин, ОШ – основи Шифа, ІПЗ – ізовані подвійні зв'язки, цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат, ЖК – жирні кислоти, ЦТФ – цитидинтрифосфат.

кагелевих пластинах "Sorbfil" у суміші гептан: діетиловий ефір:крижана оцтова кислота (60:40:2) [3]. Фосфоліпіди фракціювали в суміші хлороформ:етанол:вода:триетаноламін (30:35:7:35) [17]. Пластини проявляли в парах йоду, плями відповідних фракцій зішкрібали, елюювали сумішшю хлороформ:метанол (1:2), елюати випаровували. Вміст МГ, ДГ, ТГ визначали за реакцією із хлоридним фенолгидразином [20], кількість ВЖК – за одержанням відповідних солей міді й наступною їх реакцією з діетилдитіокарбаматом [3], вміст ВХ і ЕХ – за реакцією з хлоридним залізом [9]. Результати виражали в мг/г тканини. Вміст ЗФЛ та окремих фосфоліпідних фракцій встановлювали за фосфором [18]. Результати виражали в мкгР/г тканини. Визначення вмісту таких показників ПОЛ, як ІПЗ [5] та ОШ [10], проводили в гептанізопропанольних (4:6) екстрактах. Отримані виміри оптичної густини перераховували на 1 г тканини.

Одержані результати піддавали статистичній обробці за методом Фішера з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами було встановлено, що хлорид кобальту викликає розвиток оксидативного стресу, що підтверджується накопиченням кінцевих продуктів ПОЛ – ОШ в НЛ легень та обох фракцій в нирках, зменшенням вмісту ІПЗ в НЛ нирок та обох фракцій в легенях (табл. 1-2). Зниження концентрації ІПЗ в ФЛ печінки може розглядатися як результат активації ПОЛ [1].

За цих умов ми спостерігали зміни метаболізму ліпідів. Зокрема, підвищувався вміст ДГ та ТГ в усіх органах (табл. 3-6), що може відбуватися за рахунок використання ТГ в енергетичному обміні [8]. При цьому відсутність змін концентрації ВЖК в печінці та нирках і збільшення – в серці та легенях спричинені активацією їх утилізації в цих органах. Надходження ВЖК з жирових депо є малоімовірним, оскільки відома гіперглікемічна дія хлориду кобальту [21, 22, 23], що через цикл глюкоза-жирні кислоти повинні зменшувати надходження ЖК з жирової тканини. Встановлене збільшення вмісту ДГ також може відбуватися завдяки зростанню концентрації ФК – ключовою

Таблиця 1 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень основ Шифа деяких тканин щурів ($M \pm m$, DE/г тканини, n=6)

Тканини	Контроль	Вплив		
		Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту
Нейтральні ліпіди				
Печінка	2,90±0,12	7,17±1,29 ^a	2,04±0,16 ^a	1,97±0,10 ^{a,b}
Серце	3,25±0,16	1,42±0,19 ^a	0,83±0,07 ^a	1,30±0,10 ^{a,c}
Легені	4,97±0,19	4,68±0,24	6,96±0,23 ^a	8,49±0,37 ^{a,b,c}
Нирки	4,03±0,37	1,97±0,12 ^a	7,07±0,68 ^a	2,87±0,15 ^{a,b,c}
Фосфоліпіди				
Печінка	3,00±0,26	2,07±0,22 ^a	2,54±0,21	1,97±0,14 ^a
Серце	1,05±0,04	2,49±0,11 ^a	1,03±0,16	1,77±0,07 ^{a,b}
Легені	1,98±0,19	1,56±0,30	2,57±0,20	2,27±0,18
Нирки	2,50±0,28	6,84±0,41 ^a	5,57±0,39 ^a	4,79±0,16 ^{a,b}

Примітка. Тут і в наступних таблицях: ^a – достовірні, порівняно з контролем, зміни, ^b – пентоксифіліном, ^c – кобальтом ($p \leq 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень ізольованих подвійних зв'язків деяких тканин щурів ($M \pm m$, DE/г тканини, n=6)

Тканини	Контроль (n=6)	Вплив		
		Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін+ хлорид кобальту (n=6)
Нейтральні ліпіди				
Печінка	9,03±0,45	7,65±0,03	11,70±1,65	10,62±0,79
Серце	22,83±3,89	27,00±0,27	21,87±1,22	21,26±0,52
Легені	22,66±1,46	21,00±0,18	12,17±1,19 ^a	20,55±0,47 ^c
Нирки	18,08±0,62	11,70±1,48 ^a	15,52±0,78 ^a	17,89±0,99 ^b
Фосфоліпіди				
Печінка	36,70±1,87	36,86±2,51	29,54±1,51 ^a	31,41±1,66
Серце	50,23±4,75	47,40±0,38	55,64±5,94	53,83±0,57
Легені	37,76±2,10	44,80±3,84	29,23±0,92 ^a	37,66±3,15 ^c
Нирки	35,11±1,68	45,00±3,53 ^a	36,00±0,76	29,37±0,78 ^{a,b,c}

Таблиця 3 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр нейтральних ліпідів печінки щурів ($M \pm m$, мг/г тканини)

Фракції нейтральних ліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін+ хлорид кобальту (n=6)
Моноацил-гліцериди	2,95±0,17	4,23±0,36 ^a	2,35±0,21	1,90±0,16 ^{a,b}
Вільний холестерол	1,89±0,25	1,91±0,07	1,59±0,09	1,69±0,16
Діацил-гліцериди	1,09±0,06	4,10±0,21 ^a	10,51±1,08 ^a	1,86±0,10 ^{a,b,c}
Вільні жирні кислоти	2,90±0,23	2,85±0,15	3,52±0,13	3,74±0,41
Триацил-гліцериди	8,38±0,71	7,45±0,84	11,83±1,07 ^a	12,60±1,80 ^b
Ефіри холестеролу	5,32±0,29	1,98±0,17 ^a	2,18±0,28 ^a	2,14±0,26 ^a

Таблиця 4 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр нейтральних ліпідів нирок щурів ($M \pm m$, мг/г тканини)

Фракції нейтральних ліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту (n=6)
Моноацил-гліцериди	1,39±0,18	8,27±0,96 ^a	1,70±0,17	1,37±0,20 ^b
Вільний холестерол	2,70±0,20	1,75±0,30 ^a	2,51±0,06	1,43±0,08 ^{a,c}
Діацил-гліцериди	2,71±0,33	11,02±0,86 ^a	12,58±0,60 ^a	11,98±1,54 ^a
Вільні жирні кислоти	2,71±0,20	1,75±0,30 ^a	2,51±0,06	1,43±0,08 ^{a,c}
Триацил-гліцериди	6,21±0,40	9,47±1,47	9,55±0,68 ^a	3,44±0,25 ^{a,b,c}
Ефіри холестеролу	5,18±0,51	7,30±0,68	2,96±0,30 ^a	4,96±0,20 ^{b,c}

Таблиця 5 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр нейтральних ліпідів легень щурів ($M \pm m$, мг/г тканини)

Фракції нейтральних ліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту (n=6)
Моноацил-гліцериди	1,65±0,14	1,51±0,08	3,04±0,46 ^a	4,02±0,54 ^{a,b}
Вільний холестерол	9,71±0,57	6,69±0,79 ^a	15,08±1,38 ^a	10,66±0,89 ^{b,c}
Діацил-гліцериди	2,68±0,20	2,19±0,21	4,97±0,53 ^a	4,33±0,39 ^{a,b}
Вільні жирні кислоти	2,71±0,20	3,30±0,03 ^a	3,38±0,15 ^a	5,13±0,17 ^{a,b,c}
Триацил-гліцериди	4,78±0,59	3,98±0,39	7,80±0,57 ^a	2,62±0,27 ^{b,c}
Ефіри холестеролу	7,43±0,81	7,52±0,78	10,43±1,13	8,97±0,89

Таблиця 6 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр нейтральних ліпідів серця щурів ($M \pm m$, мг/г тканини)

Фракції нейтральних ліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту (n=6)
Моноацил-гліцериди	6,60±0,66	3,69±0,69 ^a	4,21±0,26 ^a	2,11±0,61 ^{a,c}
Вільний холестерол	8,20±0,53	9,39±0,70	17,06±1,71 ^a	10,48±0,92 ^c
Діацил-гліцериди	4,36±0,22	8,92±0,80 ^a	11,59±0,78 ^a	10,62±0,72 ^a
Вільні жирні кислоти	3,08±0,32	3,90±0,40	4,52±0,36 ^a	5,29±0,16 ^{a,b}
Триацил-гліцериди	8,04±0,68	8,00±1,37	14,47±0,64 ^a	2,60±0,17 ^{a,b,c}
Ефіри холестеролу	6,99±0,55	7,77±0,15	15,88±1,56 ^a	4,83±0,23 ^{a,b,c}

сполуки фосфоліпідного метаболізму. Введення хлориду кобальту не впливало на вміст ВХ, але зменшувало ЕХ у печінці, при цьому в периферичних тканинах, таких, як серце і легені, рівні ВХ та ЕХ були підвищеними. Це може бути пов'язано з метаболізмом резервної форми холестеролу – ЕХ у печінці та наступне надходження його до периферичних органів для репарації пошкоджених мембран за умов активації оксидативного стресу.

Відомо, що метаболізм ліпідів в різних органах відбувається з неоднаковою інтенсивністю, але найактивніше – в нирках та печінці. Тому підвищення концентрацій ЗФЛ у нирках

(табл. 7-10), яке ми спостерігали при введенні хлориду кобальту, може переважно свідчити про активацію їх синтезу, а збільшення їх вмісту в легенях – про надходження з крові. Крім того, при введенні хлориду кобальту було встановлено зміни фосфоліпідного спектра, які мали свої особливості залежно від органа. Зменшувалась концентрація ФХ в усіх органах та зростав вміст ЛФХ в легенях і серці.

Введення хлориду кобальту викликало підвищення рівня ФІ в печінці. Це частково може відбуватися через збільшення концентрації його попередника – ФК. Зменшення вмісту СМ, що було встановлено при введенні

хлориду кобальту, можливо, пов'язане з активацією сфінгомієлінази, активність якої підвищується під впливом різних оксидантів [15].

В легенях за умов розвитку оксидативного стресу, викликаного іонами кобальту, метаболізм ФЛ також суттєво змінювався, зокрема збільшувався вміст КЛ, ФЕ, ФІ, СМ, що, ймовірно, відбувалось через зростання концентрації їх попередників – ДГ та ФК.

Привертає увагу той факт, що, на відміну від інших органів, в нирках іони кобальту викликали зменшення концентрації ФІ, що, можливо, пов'язано з функціонуванням нирок як органа виведення, в який пізніше потрапляє кобальт у формі хелатів, оскільки чинник стресу активує фосфатидилінозитольний сигнальний шлях. Зміни вмісту решти ФЛ були подібними до змін в інших органах (підвищувалась концентрація КЛ, ФК, СМ, ФЕ). На відміну від інших органів, у серці введення хлориду кобальту викликає близьку картину змін фосфоліпідного спектра, за винятком відсутності змін вмісту СМ та КЛ.

Нами було встановлено, що введення пентоксифіліну впливає на активність ВРО, що підтверджується різноспрямованими змінами концентрації ОШ в НЛ та ФЛ печінки, нирок, серця: збільшення – в НЛ печінки, в ФЛ серця та нирок; зниження – в ФЛ печінки, НЛ серця і нирок. Це може пояснюватись перерозподілом

поліненасичених ЖК між фракціями НЛ та ФЛ. Крім того, показано, що в НЛ нирок вплив пентоксифіліну на концентрацію показників, які було досліджено, є більш вираженим, порівняно з іншими органами.

Як і хлорид кобальту, пентоксифілін підвищував вміст ДГ в печінці, серці та нирках. Зміни концентрації МГ мали органоспецифічні особливості залежно від органа, а саме: вона знижувалась в серці, зростала в нирках та печінці, не змінювалась в легенях. Підвищення вмісту МГ в нирках та печінці може частково відбуватися через активацію ферменту ДГ-ліпази, внаслідок збільшення концентрації його субстратів – ДГ. Відсутність змін з боку вмісту ТГ та відповідні зміни в фосфоліпідному спектрі відкидають можливість утворення ДГ через ліполіз ТГ та з ФЛ. Імовірно, в цьому випадку відбувається активація синтезу ацилгліцеридів з вуглеводних попередників.

В тканинах легень введення пентоксифіліну викликало зниження вмісту ВЖК при відсутності будь-яких змін концентрації ацилгліцеридів, що частково пов'язано з їх пероксидацією.

Крім того, нами було показано, що введення пентоксифіліну збільшує вміст ЗФЛ в печінці та легенях. Це може пояснюватись пригніченням синтезу таких медіаторів запалення фосфоліпідного походження, як тромбосани, лейкотрієни тощо.

Таблиця 7 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр фосфоліпідів печінки щурів ($M \pm m$, мкг Р/г тканини)

Фракції фосфоліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту (n=6)
Загальні фосфоліпіди	1170±34	1293±29 ^a	1222±53	1011±85 ^{b,c}
Лізофосфатидил-холіни	92,29±11,38	54,60±3,91 ^a	101,10±16,64	94,43±5,29 ^a
Сфінгомієліни	222,00±8,06	278,00±21,37 ^a	96,43±5,56 ^a	90,86±6,78 ^{a,b}
Фосфатидил-холіни	352,10±20,33	378,70±12,71	191,90±8,81 ^a	281,43±17,49 ^{a,b,c}
Фосфатидил-інозитолі	63,00±8,00	120,20±5,42 ^a	161,10±18,30 ^a	84,29±10,64 ^{a,b,c}
Фосфатидил-серини	132,10±17,45	66,80±4,27 ^a	277,90±28,82 ^a	240,86±26,70 ^{a,b}
Фосфатидил-етаноламіни	200,90±17,25	89,50±1,48 ^a	193,50±29,82	124,30±30,09 ^{a,c}
Фосфатидові кислоти	66,57±4,25	78,50±3,31	93,71±6,72 ^a	74,00±3,92 ^c
Кардіоліпіни	68,71±4,83	231,30±19,30 ^a	102,30±11,14 ^a	75,14±9,94 ^{b,c}

Таблиця 8 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр фосфоліпідів нирок щурів ($M \pm m$, мкг Р/г тканини)

Фракції фосфоліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту (n=6)
Загальні фосфоліпіди	1094±19	1122±21	1546±32 ^a	1384±22 ^{a,b,c}
Лізофосфатидил-холіни	82,83±3,75	81,60±5,71	106,80±8,88	98,71±11,05
Сфінгомієліни	117,14±5,89	87,14±4,62 ^a	243,70±12,69 ^a	244,30±7,96 ^{a,b}
Фосфатидил-холіни	326,40±14,60	362,50±8,45	166,86±10,22 ^a	288,14±11,15 ^{b,c}
Фосфатидил-інозитолі	96,29±4,04	102,30±6,24	68,57±3,26 ^a	105,30±1,71 ^{a,c}
Фосфатидил-серини	87,43±3,05	106,50±4,86 ^a	259,20±10,42 ^a	113,40±4,05 ^{a,c}
Фосфатидил-етаноламіни	190,60±4,12	224,90±5,51 ^a	349,80±9,92 ^a	335,60±8,08 ^{a,b}
Фосфатидові кислоти	82,50±4,09	87,43±4,03	186,80±5,74 ^a	87,29±4,15 ^c
Кардіоліпіни	82,50±5,86	87,43±5,88	161,70±1,15 ^a	74,86±2,11 ^{a,b,c}

Таблиця 9 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр фосфоліпідів легень щурів ($M \pm m$, мкг Р/г тканини)

Фракції фосфоліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту (n=6)
Загальні фосфоліпіди	709,00±11,44	780,30±23,52 ^a	1269,00±30,94 ^a	1019±39,33 ^{a,b}
Лізофосфатидил-холіни	59,85±2,84	135,83±6,46 ^a	135,84±12,22 ^a	110,00±3,65 ^{a,b}
Сфінгомієліни	96,67±3,92	55,85±2,15 ^a	159,71±5,55 ^a	152,71±4,57 ^{a,b}
Фосфатидил-холіни	158,43±4,60	148,00±4,29	119,14±4,60 ^a	107,57±4,80 ^{a,b}
Фосфатидил-інозитолі	69,57±3,07	98,71±3,41 ^a	172,00±3,41 ^a	110,42±4,57 ^{a,c}
Фосфатидил-серини	89,35±2,41	105,71±3,77 ^a	53,86±1,62 ^a	59,00±2,43 ^{a,b}
Фосфатиди-етаноламіни	94,42±4,94	79,71±5,35	197,67±0,99 ^a	169,00±3,50 ^{a,b,c}
Фосфатидові кислоти	65,00±1,15	58,67±2,63	149,29±5,05 ^a	115,40±4,14 ^{a,b,c}
Кардіоліпіни	78,57±3,10	131,43±5,43 ^a	216,17±5,02 ^a	211,50±4,40 ^{a,b}

Таблиця 10 – Вплив пентоксифіліну та хлориду кобальту на рівень і спектр фосфоліпідів серця щурів ($M \pm m$, мкг Р/г тканини)

Фракції фосфоліпідів	Контроль (n=6)	Пентоксифілін (n=6)	Хлорид кобальту (n=6)	Пентоксифілін + хлорид кобальту (n=6)
Загальні фосфоліпіди	917,10±60,21	742,20±25,80	1018,00±36,91	738,20±27,71 ^c
Лізофосфатидил-холіни	67,00±5,56	93,85±1,47 ^a	117,67±6,66 ^a	101,40±6,00 ^{a,c}
Сфінгомієліни	56,42±2,76	118,86±3,65 ^a	69,00±4,46	70,50±2,75 ^{a,b}
Фосфатидил-холіни	284,85±11,51	114,00±6,13 ^a	156,67±4,39 ^a	183,64±11,26 ^{a,b}
Фосфатидил-інозитолі	88,29±2,58	71,07±2,25 ^a	116,14±3,78 ^a	77,00±3,16 ^{a,c}
Фосфатидил-серини	70,28±3,47	93,14±2,97 ^a	126,175,12 ^a	102,85±4,54 ^{a,c}
Фосфатидил-етаноламіни	192,14±8,86	147,29±2,37 ^a	221,67±18,27	75,40±5,19 ^{a,b,c}
Фосфатидові кислоти	81,71±2,65	72,50±3,02	101,57±2,66 ^a	85,86±5,22 ^c
Кардіоліпіни	85,50±5,10	43,50±2,15 ^a	128,00±18,49	68,14±5,02 ^{b,c}

Відомо, що збільшення активності ферменту фосфоліпази A_2 , продуктом якої є ЛФХ, може відбуватися через активацію ВРО [1]. Тому встановлені нами зменшення вмісту ЛФХ в печінці під дією пентоксифіліну та підвищення вмісту КЛ, що, як відомо, повністю складається з ненасичених ЖК, що є мішенню ВРО, пов'язані з пригніченням ВРО в фосфоліпідній фракції. Виявлено, що введення пентоксифіліну в печінці викликає збільшення концентрації ФІ, яке може відбуватися внаслідок активації синтезу ФІ, що підтверджується зниженням вмісту ФС та ФЕ, які, як і ФІ, потребують ЦТФ для свого синтезу.

Відомо, що ФНП- α активує утворення кераміду двома шляхами: через активацію сфінгомієлінази та через синтез de novo (при взаємодії сфінганіну та ацил-КоА) [14]. Тому використання речовин, що знижують активність синтезу ФНП- α та пригнічують опосередковані їм ефекти, повинно, з одного боку, збільшувати вміст СМ, а з іншого – знижувати його через зменшення концентрації його попередника – кераміду. Таким чином, встановлене нами підвищення вмісту СМ під впливом введення пентоксифіліну як анти-ФНП- α фактора може свідчити про те, що ФНП- α не діє на активність іншого шляху утворення СМ – через сфінганілфосфорилхолін.

В тканинах легень введення пентоксифіліну викликало збільшення концентрації ЛФХ при незмінному рівні ФХ. Це може свідчити про активацію фосфоліпази A_2 та синтез ФХ de novo. На користь останнього припущення свідчить зменшення вмісту СМ, що як і ФХ, у ролі свого попередника використовує ЦДФ-холін.

Нами було встановлено, що сумісне введення пентоксифіліну та хлориду кобальту впливало як на активність процесів ПОЛ, так і на метаболічні перетворення ліпідів. При цьому зміни вмісту ОШ в фосфоліпідній фракції більшою мірою повторювали дію пентоксифіліну, а в нейтральних ліпідах – хлориду кобальту (концентрація ОШ підвищувалась в легенях та знижувалась в печінці та серці). Сумісне введення пентоксифіліну та хлориду кобальту викликало зміни вмісту ДГ в бік стабілізації лише в печінці, при цьому концентрація ТГ в ній була на рівні дії хлориду кобальту. В нирках стабілізувався вміст МГ та залишалась підвищеною концентрація ДГ, зменшувався вміст ТГ, ВХ та ВЖК. Збільшення вмісту МГ, ДГ в легенях та зменшення рівня ТГ, можливо, відбувались через активацію деяких ліполітичних ферментів. Це, ймовірно, є причиною змін у ліпідному спектрі серця при введенні хлориду кобальту та пентоксифіліну – збільшення вмісту ВЖК, ДГ та зменшення рівня ТГ і ЕХ.

Крім того, показано, що сумісне введення пентоксифіліну та хлориду кобальту викликало зниження вмісту ФХ в усіх органах, крім нирок, при цьому концентрація ЛФХ стабілізувалась в печінці та залишалась підвищеною в серці й легенях. Як і при введенні хлориду кобальту, вміст ФЕ підвищувався в нирках, легенях, але знижувався в печінці та серці. Концентрація ФІ була збільшена в печінці, нирках та легенях, але через дію пентоксифіліну зменшувалась в серці. Зміни концентрації ФС були подібними до тих змін, що ми спостерігали в групі кобальт-стресованих тварин.

Відомо, що ФНП- α може через активацію сфінгомелінази зменшувати рівень СМ в клітині [13]. Тому логічно припустити, що використання пентоксифіліну, який збільшує концентрацію СМ у печінці, за умов введення хлориду кобальту повинно призводити до нормалізації його рівня. Але ми встановили, що вміст СМ знижувався, як і при введенні хлориду кобальту.

ВИСНОВКИ. Було з'ясовано, що введення хлориду кобальту викликає розвиток оксидативного стресу, який впливає на метаболізм ліпідів. Значне підвищення рівня ДГ та відповідні зміни концентрацій МГ і ТГ, можливо, свідчать про активацію використання ТГ в енергетичному обміні. Встановлені зміни дозволяють припустити можливість впливу іонів кобальту на активність ферментів метаболізму ФЛ, а також те, що через 2 год після дії стрес-агента – кобальту спостерігається активація репараційних процесів у клітині.

Введення пентоксифіліну за умов розвитку оксидативного стресу, який було викликано хлоридом кобальту, загалом пригнічувало розвиток стресорної реакції. Встановлений вплив пентоксифіліну на ліпідний обмін може розглядатися з боку його властивостей знижувати вміст ФНП- α та потребує подальшого вивчення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Суткавой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 408 с.
2. Белоусова І.П. Порівняльна ефективність похідних ксантину при гіпоксичному синдромі // Ліки. – 1998. – № 5. – С. 90-93.
3. Биологические мембраны. Методы: Пер. с англ. / Под ред. Дж.Б. Финдлея, У.Г. Эванза. – М.: Мир, 1990. – 424 с.
4. Войнар А.Д. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. – М.: Наука, 1960. – 2. – С. 163-194.
5. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопросы мед. химии. – 1989. – 35, № 6. – С. 127-131.
6. Калиман П.А., Беловецкая И.В. Влияние хлорида кобальта на активность ключевых ферментов метаболизма гема в печени крыс // Биохимия. – 1986. – 51, № 8. – С. 1302-1307.
7. Калиман П.А., Загайко А.Л., Шаламов Р.А. и др. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта // Укр. биохим. журн. – 1997. – 69, № 5. – С. 138-148.
8. Калиман П.А., Шаламов Р.В., Загайко А.Л. Влияние хлорида кобальта на содержание липидов и липопротеинов в печени и сыворотке крови крыс // Биохим. – 1997. – 62, № 7. – С. 850-857.
9. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Беларусь: Минск, 1982. – С. 241-242.
10. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопросы мед. химии. – 1991. – 37, № 1. – С. 92-93.
11. Сидоряк Н.Г. Изменения транспорта кислорода в организме при гемической гипоксии: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – К., 1985. – 20 с.
12. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Canad. J. Biochem. Physiol. – 1956. – 37, № 8. – P. 911-917.
13. Cao L.C., Honeyman T., Jonassen J., Scheid C. Oxalate-induced ceramide accumulation in Madin-Darby canine kidney and LLC-PK1 cells // Kidney Int. – 2000. – 57, № 6. – P. 2403-2411.
14. Dbaibo G.S., El-Assaad W., Krikorian A. et al. Ceramide generation by two distinct pathways in tumor necrosis factor alpha-induced cell death // FEBS Lett. – 2001. – 503, № 1. – P. 7-12.
15. Garcia-Ruiz C., Mari M., Morales A. et al. Human placenta sphingomyelinase, an exogenous acidic pH-optimum sphingomyelinase, induces oxidative stress, glutathione depletion, and apoptosis in rat hepatocytes // J. C. Hepatology. – 2000. – 32, № 1. – P. 56-65.
16. Lalli E., Sassone-Corsi P. Signal transduction and gene regulation: the nuclear response to cAMP // J. Biol. Chem. – 1994. – 269, № 26. – P. 17359-17362.
17. Leray C., Pelletier X., Hemmendinger S., Cazenave J.P. Thin-layer chromatography of human platelet phospholipids with fatty acid analysis // J. Chromatogr. – 1987. – 2. – P. 411-416.
18. Sandhu R. Serum phospholipids without acid dejection // Clin. Chem. – 1976. – 2, № 12. – P. 1973-1975.

19. Tannenbaum C.S., Hamilton T.A. Lipopolysaccharide-induced gene expression in murine peritoneal macrophages is selectively suppressed by agents that elevate intracellular camp // J. Immunol. – 1989. – **142**, № 4. – P. 1274-1280.

20. Tixer M., Claude J. Une Technique simple et rapide de dosage des triglycerides // Ann. Biol. Clin. Ales. – 1974. – **32**, № 1. – P. 53-57.

21. Yamatani K., Saito K., Ikezawa Y. et al. Relative contribution of Ca²⁺-dependent mechanism in gluca-

gon-induced glucose output from the liver // Arch. Biochem. Biophys. – 1998. – **355**, № 2. – P. 175-180.

22. Yamatani K., Saito K., Takahashi K. et al. Hormone-specific combinations of isoforms of adenylyl cyclase and phosphodiesterase in the rat liver // Regul. Pept. – 2001. – **99**, № 1. – P. 45-52.

23. Ybarra J., Behrooz A., Gabriel A. et al. Glycemia-lowering effect of cobalt chloride in the diabetic rat: increased GLUT1 mRNA expression // Mol. Cell. Endocrinol. – 1997. – **133**, № 2. – P. 151-160.

МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ И ИХ ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА И ХЛОРИДА КОБАЛЬТА В НЕКОТОРЫХ ОРГАНАХ КРЫС

С.В. Оксененко¹, П.А. Калиман²

ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ АМН УКРАИНЫ, Г. ХАРЬКОВ¹

ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА²

Резюме

Изучено влияние пентоксифиллина и хлорида кобальта на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и их метаболизм в печени, сердце, почках и легких крыс. Активацию ПОЛ определяли по динамике накопления его продуктов – оснований Шиффа и по концентрации субстратов ПОЛ – изолированных двойных связей. Исследовали такой показатель липидного обмена, как спектр нейтральных липидов и фосфолипидов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что после введения животным хлорида кобальта в дозах, которые вызывают развитие окислительного стресса, возрастает уровень ди- и триацилглицеридов, что, вероятно, указывает на увеличение потребностей в триацилглицеридах для энергетического обмена. Кроме того, значительно изменяется фосфолипидный спектр, что может свидетельствовать об активации некоторых ферментов фосфолипидного обмена для репарации поврежденных мембран. Введение в этих условиях пентоксифиллина в целом приводило к предотвращению развития стресс-реакции.

Было установлено, что сам пентоксифиллин влияет на метаболизм липидов. Это может быть связано с его способностями подавлять синтез фактора некроза опухоли- α .

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, окислительный стресс, хлорид кобальта, пентоксифиллин.

LIPIDS METABOLISM AND LIPID PEROXIDATION AT PENTOXIFYLLINE AND COBALT CHLORIDE INJECTIONS IN SOME ORGANS OF RATS

S.V. Oksenenko¹, P.A. Kaliman²

INSTITUTE OF THERAPY AMS OF UKRAINE, KHARKIV¹

KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN²

Summary

The influence of pentoxifylline and cobalt chloride on processes of lipid peroxidation and metabolism was investigated. The activation of lipid peroxidation was determined by accumulation of such products of lipid peroxidation as Schiff bases and isolated double bounds. Such index of lipid metabolism as spectrum of neutral lipids and phospholipids was investigated.

The obtained results testify that development of oxidative stress by injection of cobalt chloride causes the increase of diglyceride and triglyceride levels, it probably testifies about increasing requirements in triglycerides for energetic metabolism. The spectrum of phospholipids was changed, that can indicate the activation of some enzymes of phospholipid metabolism for reparation of disturbed membranes.

The preliminary injection of pentoxifylline as a whole has protective action. The mono-injection of pentoxifylline influenced the lipid metabolism that can be caused by suppressing the synthesis of tumour necrosis factor- α .

KEY WORDS: lipid, oxidative stress, cobalt chloride, pentoxifylline.

Отримано 26.12.2002 р.

Адреса для листування: П.А. Калиман, пр. Свободи, 39-в, кв. 35, Харків, 61202, Україна.

ЗМІНА ОРГАНІЧНОГО МАТРИКСУ НИЖНЬОЩЕЛЕПНИХ КІСТОК У ЩУРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ НЕРВОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

К.С. Непорада

УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, ПОЛТАВА

На моделі хронічного стресу у щурів з різною стресостійкістю обґрунтовані висновки про підсилення резорбції кісткової тканини пародонта, провідним механізмом розвитку якої є підвищений катаболізм протеогліканів і глікопротеїнів органічного матриксу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стресостійкість, протеоглікани, глікопротеїни, кісткова тканина, пародонт.

ВСТУП. Механізми втрати кісткової маси, що зумовлюють розвиток остеопорозу недостатньо розкрито. Останнім часом серед різноманітних етіологічних факторів демінералізації кісткової тканини важливого значення надають психоемоційному напруженню [2, 10]. Переконливим доказом даного положення, на наш погляд, може бути вивчення особливостей метаболізму кісткової тканини залежно від індивідуальної реакції організму на хронічний стрес, оскільки в його патогенезі нейрогормональні механізми відіграють вирішальну роль.

Велику увагу в процесах демінералізації кісткової тканини приділяють біополімерам органічної фази, які відіграють важливу роль не тільки в ініціації мінералізації, але і в обміні речовин [1, 4, 15].

Мета дослідження – вивчити в експерименті особливості метаболічних змін органічного матриксу кісткової тканини пародонта при хронічному стресі у щурів з різною стресостійкістю.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на 125 щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 150-200 г, яких утримували на стандартній дієті. Хронічний емоційно-больовий стрес (ЕБС) моделювали за методом [12] протягом 12 діб. Індивідуально-типологічні особливості поведінки тварин і прогностичну оцінку їх стресостійкості визначали на підставі тесту “відкрите поле” і факторно-аналітичного

методу [3]. Це дало можливість на основі індивідуальних значень виділених факторів, що відображають особливості поведінки і нервової регуляції, поділити щурів на 3 типи: стресостійких, помірно стійких і нестійких до стресу. Контролем до кожної групи були тварини відповідного типу реагування. Забій щурів проводили через 2 год після закінчення дії стресорного фактора під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньочеревно). Об'єктом дослідження була кісткова тканина пародонта, в якій визначали вміст глікозаміногліканів [9], гексуранових кислот [13] та фукози [14]. Резорбцію альвеолярного відростка оцінювали методом обчислення коефіцієнта оголення коренів молярів [7]. Для визначення біохімічних показників у нижньощелепних кістках брали наважку сухої тканини, яку піддавали гідролізу папаїном. Гідролізат фракціонували з використанням четвертинних амонійних солей за методом [9]. Осад багаторазово обробляли розчинами NaCl, концентрація яких зростає. Отримані фракції відповідали гіалуронової кислоті, хондроїтин-сульфатам та гепарину. В кожній фракції визначали вміст глюкуронової кислоти, результати виражали у грамах глюкуронової кислоти на 100 г сухої тканини. Отримані результати обробляли статистично, використовуючи критерій t-Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Хронічний стрес супроводжується активацією резорбції кісткової тканини пародонта, про що свідчить

© К.С. Непорада – к.мед.н., 2003.

підвищення коефіцієнта оголення коренів молярів (табл. 1). Ступінь активації резорбції нижньощелепних кісток у нестійких до стресу щурів був достовірно вищим, ніж відповідні показники у інтактних тварин цього типу. Даний показник у стресостійких та помірно стійких щурів вірогідно не змінювався, порівняно з контролем відповідних типів (табл. 1). Отже, є підстави вважати, що резорбція кісткової тканини пародонта за умов хронічного стресу залежить від типу реагування тварин.

Відомо, що в процесах мінералізації кісткової тканини важливу роль відіграє органічний матрикс, 5 % якого становлять неколагенові білки, зокрема глікопротеїни і протеоглікани [5, 6]. Для оцінки змін органічної фази кісткової тканини при хронічному стресі ми досліджували вміст фукози, яка є мономером глікопротеїнів, а також гексуранових кислот і глікозаміногліканів, що є компонентами протеогліканів. Нами встановлено, що вміст фукози у нижньощелепних кістках при стресорному впливі достовірно підвищується у тварин нестійкого типу, порівняно з контролем; аналогічних змін

зазнає також вміст гексуранових кислот у кістковій тканині пародонта (табл. 2). Отже, зміни структурної організації органічного матриксу кісткової тканини при хронічному стресі залежать від типологічних особливостей нервової регуляції.

Хондроїтин-сульфати є головним типом глікозаміногліканів кісткової тканини. Їх вміст в нижньощелепних кістках достовірно підвищується при хронічному стресі у всіх дослідних групах тварин, порівняно з контролем (табл. 3). При цьому вміст гіалуронової кислоти у кістковій тканині вірогідно збільшується лише у щурів нестійкого типу, порівняно з інтактними тваринами; у щурів стресостійкого типу він достовірно не змінюється. На відміну від інших глікозаміногліканів, вміст гепарину в кістковій тканині при хронічному стресі суттєво не змінюється в усіх дослідних групах (табл. 3).

Отже, за умов хронічного стресу підсилюється деполімеризація протеогліканів, про що свідчить збільшення вмісту глікозаміногліканів в кістковій тканині пародонта. Але при цьому метаболічні зміни виражені неоднаково у до-

Таблиця 1 – Ступінь резорбції альвеолярного відростка нижньощелепних кісток у щурів з різною стресостійкістю (M±m)

№ за/п	Групи тварин	Типи		
		Нестійкі до стресу	Помірно стійкі до стресу	Стресостійкі
1	Коефіцієнт оголення коренів молярів, % – інтактні	15,61±0,10 (6)	14,35±0,15 (6)	11,08±0,25 (6)
2	– хронічний стрес	44,63±0,18* (7)	19,28±0,17 (6)	21,05±0,30 (6)

Примітки. 1. У даній та наступних таблицях у дужках вказано кількість тварин.

2. * – $p_{1,2} < 0,05$.

Таблиця 2 – Вміст фукози та гексуранових кислот в нижньощелепних кістках у щурів з різною стресостійкістю (M±m)

№ за/п	Групи тварин Показники	Типи		
		Нестійкі до стресу	Помірно стійкі до стресу	Стресостійкі
1	Інтактні:			
	– фукоза, мкмоль/г;	1,35±0,08 (6)	1,36±0,12 (7)	1,33±0,09 (6)
	– гексуранові кислоти, мкмоль/г	1,70±0,11 (6)	2,12±0,10 (7)	2,31±0,15 (6)
2	Хронічний стрес:			
	– фукоза, мкмоль/г;	1,77±0,06* (7)	1,59±0,09 (6)	1,49±0,13 (6)
	– гексуранові кислоти, мкмоль/г	2,49±0,12* (7)	2,38±0,13 (6)	2,47±0,14 (6)

Таблиця 3 – Вміст глікозаміногліканів (г/100г) в нижньощелепних кістках у щурів з різною стресостійкістю (M±m)

№	Групи тварин Показники	Типи	
		Нестійкі до стресу	Стресостійкі
1.	Інтактні:		
	– гіалуронова кислота;	0,109±0,008 (6)	0,107±0,009 (6)
	– хондроїтин-сульфати;	0,406±0,008 (6)	0,395±0,007 (6)
	– гепарин	0,048±0,007 (6)	0,041±0,006 (6)
2.	Хронічний стрес:		
	– гіалуронова кислота;	0,137±0,007 (6)*	0,116±0,007 (6)
	– хондроїтин-сульфати;	0,549±0,009 (6)*	0,487±0,009 (6)*
	– гепарин	0,053±0,005 (6)	0,051±0,007 (6)

сліджуваних групах тварин: найбільший ступінь дезорганізації компонентів органічного матриксу характерний для стресонестійких щурів. Зіставлення змін органічної речовини кісткової тканини і ступеня її резорбції переконує в тому, що ініціювальним механізмом втрати кісткової тканини альвеолярного відростка та оголення коренів молярів за умов хронічного стресу є підсилення катаболізму неколагенових білків – протеогліканів і глікопротеїнів.

Таким чином, стресорна активація катаболічних процесів в кістковій тканині пародонта тісно пов'язана з типологічними особливостями нервової регуляції.

Найбільш чутливими до стресорних впливів об'єктами є тварини стресонестійкого типу, про що свідчить максимальний ступінь резорбції альвеолярного відростка та деполімеризації неколагенових білків органічної матриці кісткової тканини пародонта.

Одержані нами дані про залежність метаболічних змін кісткової тканини від нейрогенних

впливів добре узгоджуються з результатами клінічних спостережень авторів, які відводять розладу нервової регуляції суттєву роль у розвитку генералізованого пародонтиту [8, 11].

Отже, важливим фактором ризику демінералізації щелепних кісток є хронічний стрес, що зумовлює дизрегуляцію їх метаболізму, яка залежить від типу реагування організму. Підвищення деполімеризації компонентів органічного матриксу призводить до втрати кісткової маси та оголення коренів молярів, що є причиною розхитування та елімінації зубів.

ВИСНОВКИ. 1. Хронічний стрес підвищує резорбцію кісткової тканини пародонта залежно від типу реагування: найбільш виражена дезорганізація сполучнотканинних структур у тварин нестійкого типу, порівняно із стійким.

2. Ініціальним фактором демінералізації кісткової тканини пародонта при хронічному стресі є активація катаболізму неколагенових білків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бычков С.М., Кузьмина С.А. Протеогликианы и клетки // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1996. – № 2. – С. 124-127.
2. Григоровский В.В., Магомедов С. Гистопатология, динамика и корреляция морфологических признаков поражения кости и биохимических показателей метаболизма межклеточного вещества соединительной ткани при экспериментальном травматическом остеомиелите // Журн. АМН Украины. – 2001. – Т. 7, № 2. – С. 245-259.
3. Майоров О.Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1988. – 45 с.
4. Мальчиков А.Я., Стрелков Н.С., Меньшикова Н.Н. и др. Показатели биополимеров соединительной ткани при хирургических вмешательствах // Клини. лаб. диагност. – 2001. – № 10. – С. 46-47.
5. Минченко Б.И., Беневоленский Д.С., Тишина Р.С. Биохимические показатели метаболических нарушений в костной ткани // Клини. лаб. диагност. – 1999. – Ч. 1: Резорбция кости, № 1. – С. 8-15.
6. Минченко Б.И., Беневоленский Д.С., Тишина Р.С. Биохимические показатели метаболических нарушений в костной ткани // Клини. лабор. диагностика. – 1999. – Ч. 2: Образование кости, № 4. – С. 11-17.
7. Николаева А.В., Розовская Е.С. Экспериментальные дистрофии тканей пародонта // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1965. – **60**, № 7. – С. 46-49.
8. Пузин М.Н., Петрович Ю.А., Сухова Т.В., Зеленина Т.Г. Изменения нервной системы и их значение в патогенезе генерализованного пародонтита // Рос. стомат. журн. – 2001. – № 1. – С. 38-41.
9. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – Л.: Медицина, 1969. – 375 с.
10. Тарасенко Л.М., Скрипник І.М., Непоруда К.С. та ін. Ушкодження сполучнотканинних структур як провідний патогенетичний механізм стрес-синдрому // Мед. хімія. – 2002. – **3**, № 2. – С. 26-30.
11. Aragger U., Nyman S., Lang N.C. et al. The significance of alveolar bone in periodontal disease // J. Dens. Res. – 1990. – **17**, № 6. – P. 379-384.
12. Desiderato O., MacKinnon J., Nilsson N. Development of gastric ulcers in rats following stress termination // J. Comp. Physiol. and Psychol. – 1974. – **87**, № 4. – P. 208-214.
13. Dishe Z. A new specific color reaction of hexuronic acid // J. Biol. Chem. – 1947. – № 2. – P. 189-198.
14. Dishe Z., Shettles J. // J. Biol. Chem. – 1948. – **175**, № 7. – P. 595.
15. Issa Lee, Yohan Ono, Akiko Lee et al. Immunocytochemical localization and biochemical characterization of large proteoglycans in developing rat bone // J. of Oral Science. – 1998. – **40**, № 2. – P.77-87.

ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО МАТРИКСА НИЖНЕЧЕЛЮСТНЫХ КОСТЕЙ У КРЫС РАЗНЫХ ТИПОВ НЕРВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

К.С. Непорада

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

Резюме

На модели хронического стресса у крыс с разной стрессоустойчивостью обоснован вывод об усилении резорбции костной ткани пародонта, ведущим механизмом которой является повышенный катаболизм протеогликанов и гликопротеинов органического матрикса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стрессоустойчивость, протеогликаны, гликопротеины, костная ткань, пародонт.

ORGANIC MATRIX CHANGES IN RAT MANDIBULAR BONES OF DIFFERENT NERVOUS REGULATION TYPES AT CHRONIC STRESS

K.S. Noporada

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

Summary

On the model of chronic stress in rats with different stress resistance the conclusion of the parodontum bone tissue resorption strengthening was made, the leading mechanism of it is the increased catabolism of proteoglycans and glycoproteins of the organic matrix.

KEY WORDS: stress resistance, proteoglycans, glycoproteins, bone tissue, parodontum.

Отримано 14.11.2002 р.

Адреса для листування: К.С. Непорада, кафедра біологічної хімії, Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченко, 23, Полтава, 36024, Україна.

ЯКІСНЕ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТ І БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО КОМПЛЕКСУ СОЇ

О.Л. Левашова, В.С. Кисличенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено якісне та кількісне визначення амінокислотного складу і білка в зеленій масі й насінні сої, соєвому шроті після витягування олії та біологічно активному комплексі сої. Встановлено наявність в них 21 амінокислоти, з яких 10 належать до незамінних.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ідентифікація, амінокислоти, кількісне визначення, якісний склад, екстракція, соя, біологічно активний комплекс.

ВСТУП. Соя і соєві продукти здавна відомі як корисне і цілюще доповнення до харчового раціону. В ряді регіонів Азії соя була основою харчування не одну тисячу років та повноцінним заміником м'яса, яєць, молока. У недалекому минулому почали проводити медичні дослідження, які підтвердили, що насіння сої та соєві продукти добре збалансовані щодо амінокислотного вмісту, а соєві білки є менш алергогенними, порівняно з тваринними [1, 2, 7, 10]. Останнім часом все більша увага приділяється вивченню корисних властивостей сої, що допомагають запобігти та вилікувати різноманітні хвороби. Метою нашого дослідження було визначення білково-амінокислотного складу та кількісного вмісту окремих амінокислот 5 районуваних сортів сої та відходів виробництва соєвої олії.

Соя належить до роду *Glycine* L. родини *Leguminosae* Juss. *Fabaceae*, підродина *Faboideae*, трибе *Phaseoleae*, роду *Glycinea*. За хімічним складом вона не має собі рівних серед продуктів тваринного та рослинного походження [3, 9].

Соя є надзвичайно багатим джерелом життєво важливих для організму людини та тварин речовин, насамперед білка. Білок сої складається в основному з глобулінів та невеликої кількості альбумінів. За якісним складом та кількісним вмістом незамінних амінокислот його відносять до повноцінних білків [8, 9].

© О.Л. Левашова, В.С. Кисличенко, 2003.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження були надземна частина – свіжа трава, зібрана у період молочно-воскової стиглості, насіння сої, шрот після виробництва соєвої олії та біологічно активний комплекс (БАК) сої. Зразки рослинної сировини надані Інститутом тваринництва УААН.

Амінокислоти, як і вуглеводи, перебувають у зв'язаному стані, у вигляді поліпептидів, і вільному стані. Вміст вільних амінокислот визначали у водно-спиртових екстрактах в усіх вищезазначених об'єктах дослідження, наявність яких підтверджували позитивною нінгідриновою реакцією [4-6, 11].

Приблизно 10 г (точна наважка) сировини, заздалегідь подрібненої до розміру часток 0,5 мм, екстрагували 50 % етиловим спиртом порціями по 100 мл 3 рази на киплячому водяній основі. Спирт видаляли шляхом випарювання, залишок (15-20 мл) переносили у ділильну воронку і обробляли хлороформом 3 рази по 50 мл. Очищену витяжку нагрівали до видалення слідів хлороформу, переносили в мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм до мітки 50 % етиловим спиртом.

Для очищення екстракт пропускали через іонообмінник. Для цього 10 г катіоніту КУ-2 обробляли 200 мл 1N розчину хлоридої кислоти, після чого осад на фільтрі промивали водою до нейтральної реакції і переносили на колонку (довжина – 250 мм, діаметр – 20 мм). До 10 мл витяжки додавали 40 мл води і пропускали через колонку зі швидкістю

1 мл/хв. Колонку промивали 50 мл 6N розчину аміаку та 20 мл води. Розчин випарювали на водяному огрівнику до сухого залишку (до видалення слідів аміаку). Сухий залишок розчиняли при нагріванні у 50 % етиловому спирті. Якісний аналіз проводили за допомогою паперової (ПХ) та тонкошарової (ТШХ) хроматографії в різних системах органічних розчинників.

0,05 мл очищених витягів наносили на хроматографічний папір Filtrak FN-3 (ПХ) поруч з достовірними зразками амінокислот і хроматографували в системі розчинників "н-бутанол – оцтова кислота – вода" (БОВ) (4:1:2) та на пластинках "Silufol" (ТШХ) в системах розчинників "хлороформ – етиловий спирт" (9:1) та "етиловий спирт – аміак" (8:2). Після висушування хроматограму обробляли 0,2 % розчином нінгідрину в ацетоні з подальшим нагріванням. Амінокислоти ідентифікували за темно-фіолетовим забарвленням плям і визначенням їх Rf. Отримані дані наведено у таблиці 1.

Кількісний вміст амінокислот визначали на автоматичному аналізаторі амінокислот ААА-881 (Чехословаччина).

Наважку зразка гідролізували 200-кратним надлишком 6N хлористоводневої кислоти в автоклаві під тиском 2 атмосфери протягом 6 год, потім пробірку роздавлювали, а кислоту випаровували на водяному огрівнику до сухого залишку при температурі 100 °С, який потім розчиняли у буферному розчині – цитраті натрію при рН 2,2.

Суміш амінокислот розділяли на індивідуальні сполуки методом елюаційної іонообмінної хроматографії. Елюювання проводили буферними розчинами (цитрат натрію): 1-ша колонка (d=7 мм, h=60 мм) – рН = 5,28; 2-га колонка (d=8 мм, h=270 мм) – рН = 3,25; 3-тя колонка (d=8 мм, h=620 мм) рН = 4,25.

При постійній швидкості елюювання амінокислоти розподілялися в різних інтервалах часу залежно від різного ступеня спорідненості. Після проведення кольорової реакції з нінгід-

Таблиця 1 – Якісний склад та кількісний вміст* амінокислот і білка у свіжій траві, насінні сої, соєвому шроті та біологічно активному комплексі сої

№ за/п	Речовина	Загальна формула	Молекулярна маса	Значення Rf		Свіжа трава сої (I)	Насіння сої (II)	Шрот соєвий (III)	БАК сої (IV)
				БОВ (4:1:2)	Етанол NH ₃ (8:2)				
	Білок, г%					12,74	37,64	41,50	10,61
Амінокислоти									
1	Аланін	C ₃ H ₇ O ₂ N	89,09	0,20	0,33	2,07	1,86	1,98	1,82
2	Аргінін	C ₆ H ₁₄ O ₂ N ₄	174,21	0,04	0,17	2,97	2,67	2,83	2,08
3	Аспрагінова кислота	C ₄ H ₇ O ₄ N	133,10	0,15	0,21	5,39	4,85	5,80	4,98
4	Аспарагін	C ₄ H ₈ O ₃ N ₂	132,12	0,09	0,12	0,93	0,84	0,96	0,80
5	Валін	C ₆ H ₁₁ O ₂ N	117,15	0,43	0,51	1,89	1,70	1,81	1,40
6	Гістидин	C ₆ H ₉ O ₂ N ₃	155,16	0,10	0,25	1,94	1,75	1,86	1,66
7	Гліцин	C ₂ H ₅ O ₂ N	75,07	0,21	0,34	1,88	1,79	1,72	1,66
8	Глутамінова кислота	C ₅ H ₉ O ₄ N	147,13	0,17	0,24	8,27	7,5	7,89	6,75
9	Глутамін	C ₅ H ₁₀ O ₃ N ₂	146,15	0,13	0,31	1,72	1,55	1,65	1,34
10	Ізолейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	131,17	0,72	0,83	1,87	1,68	1,79	1,47
11	Лейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	131,17	0,63	0,69	3,28	2,95	3,13	2,08
12	Лізин	C ₆ H ₁₄ O ₂ N ₂	146,19	0,05	0,07	2,79	2,51	2,69	2,61
13	Метіонін	C ₅ H ₁₁ O ₂ NS	149,21	0,39	0,43	1,07	0,96	0,99	-
14	Орнітин	C ₅ H ₁₂ O ₂ N ₂	132,16	0,07	0,11	0,52	0,47	0,51	0,28
15	Пролін	C ₅ H ₉ O ₂ N	115,13	0,24	0,30	2,41	2,17	2,31	2,12
16	Серин	C ₃ H ₇ O ₃ N	105,09	0,14	0,19	1,62	1,46	1,54	1,36
17	Тирозин	C ₉ H ₁₁ O ₃ N	181,19		0,08	0,95	0,86	1,06	0,99
18	Треонін	C ₄ H ₉ O ₃ N	119,12	0,18	0,29	1,85	1,67	1,78	1,49
19	Триптофан	C ₁₁ H ₁₂ O ₂ N ₂	204,22	0,06	0,09	0,62	0,56	0,59	0,49
20	Фенілаланін	C ₉ H ₁₁ O ₂ N	165,19	0,52	0,61	2,43	2,19	2,33	1,23
21	Цистин	C ₆ H ₁₂ O ₄ N ₂ S ₂	240,29			0,57	0,51	0,59	-

Примітка. * – Кількісний вміст амінокислот у рослинній сировині визначали у перерахунку на суху масу, %; I – свіжа трава сої, зібрана в період молочно-воскової стиглості; II – насіння сої; III – шрот після виробництва соєвої олії; IV – біологічно активний комплекс (БАК) сої; система для ПХ – "н-бутанол – оцтова кислота – вода" (БОВ) (4:1:2); система для ТШХ – "етанол-NH₃" (8:2).

рином виконували колориметричну оцінку елюату, результати якої записували компенсаційним реєструвальним приладом. Якісне визначення амінокислот проводили за розташуванням піків на хроматограмі (рис. 1), кількісне – за площею відповідного піку за формулою:

$$S = \frac{S_{\text{зраз}} \times M \times V}{S_{\text{СТ}} \times H},$$

де $S_{\text{зраз}}$ – площа піку зразка;
 $S_{\text{СТ}}$ – площа піку стандартного зразка;
 M – молекулярна маса;
 V – об'єм розведення;
 H – висота піку.

Вміст триптофану визначали хімічним методом (методом Смирнкової-Конникової) – гідролізували 30 % розчином їдкою калію протягом 20 год в термостаті при температурі 40 °С [6].

Для визначення кількісного вмісту загального білка використовували стандартний фармакопейний метод Лоурі в модифікації Сяткіна [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Якісний склад та кількісний вміст амінокислот в усіх об'єктах дослідження наведено в таблиці 1. Через наявність значної кількості супровідних речовин, що ускладнюють хроматографічний розподіл амінокислот, провести їх повну хроматографічну ідентифікацію з достовірними зразками не вдалося.

Таким чином, при визначенні білково-амінокислотного складу і кількісного вмісту амінокислот у досліджуваних об'єктах виявлено

21 амінокислоту, у тому числі 10 незамінних, а також визначено кількісний вміст білка.

Встановлено, що з усіх досліджуваних об'єктів, отриманих із сої, максимальна кількість амінокислот і білка міститься у свіжій траві сої, зібраній у період молочно-воскової стиглості. У насінні, соєвому шроті після вилучення соєвої олії та біологічному комплексі сої в найбільшій кількості містяться (%): глутамінова кислота – 7,45; 7,89; 6,75; аспарагінова кислота – 4,85; 5,8; 4,98; лейцин – 2,95; 3,13; 2,08.

В насінні сої виявили 37,64 % (у перерахунку на суху масу) загального білка, в соєвому шроті після вилучення олії – 41,5 %, в зеленій масі – 12,74 %; протеїну в зеленій масі – 32,61 %, в насінні сої – 37,41 %. Слід відзначити, що у БАК відсутні такі амінокислоти, як цистин та метіонін.

ВИСНОВКИ. 1. Встановлено наявність 21 амінокислоти у свіжій траві сої, зібраній у період молочно-воскової стиглості, насінні, шроті після вилучення соєвої олії та біологічно активному комплексі, з яких 10 є незамінними.

2. У максимальній кількості вільні амінокислоти містяться у свіжій траві сої, зібраної у період молочно-воскової стиглості. Результати проведених досліджень розширюють існуючі відомості про амінокислотний склад та кількісний вміст насіння, надземної частини, шроту після вилучення соєвої олії та біологічно активного комплексу з сої і можуть бути використані при розробці методик аналізу біологічно активних домішок та лікарських засобів, отриманих з сої, а також при розробці АНД.

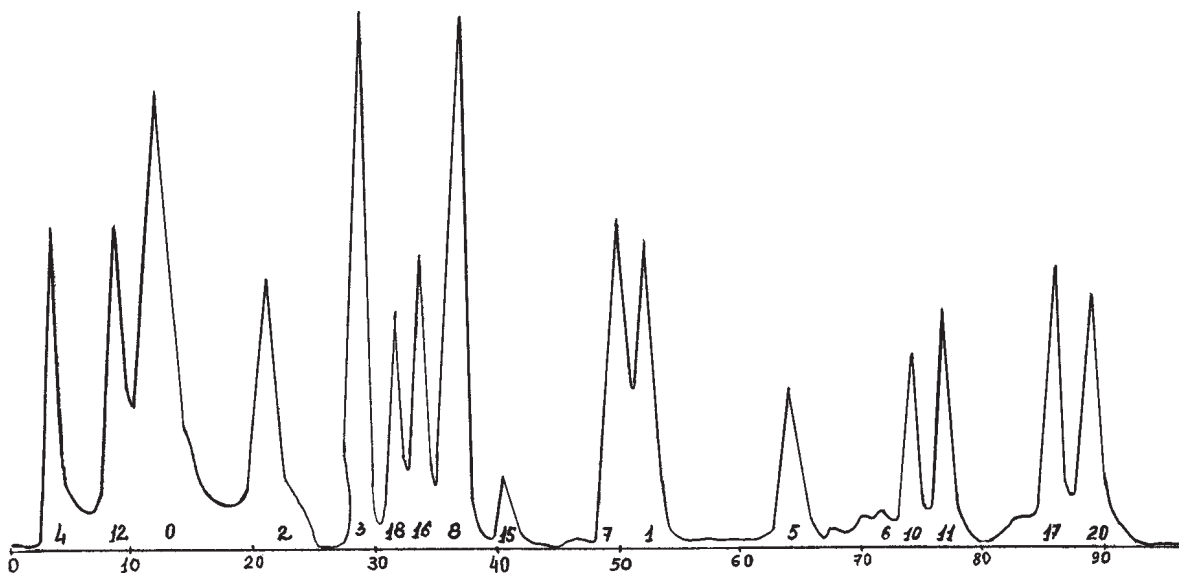


Рис. 1. Хроматограма амінокислот біологічно активного комплексу сої (номери амінокислот відповідають номерам, наведеним у таблиці 1, 0 – аміак).

ЛІТЕРАТУРА

1. Боднар Г.В., Лавриненко Г.Т. Зернобобовые культуры. – М.: Колос, 1977. – 256 с.
2. Василяки А.Ф. Соя в рациональном и лечебном питании // Здравоохранение. – 1984. – № 4. – С. 49-53.
3. Енкен В.Б. Соя. – М.: Сельхозгиз, 1959. – 623 с.
4. Калинин Ф.Л., Лобов В.П., Жидков В.А. Справочник по биохимии. – К.: Наук. думка, 1971. – 1015 с.
5. Кисличенко В.С. Якісне та кількісне визначення амінокислот у деяких представниках родин Агрусові, Бруслинні та Ранникові // Фармаком. - 1999. – № 2. – С. 22-24.
6. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Под ред. Ю.А. Овчинникова. – М.: Мир, 1974. – 462 с.
7. Справочник по биологически активным добавкам компании "Nature's Sunshine Products, Inc." / Под ред. С.Н. Федорова. – К.: Логос, 2001. – 215 с.
8. Химический состав пищевых продуктов: Справочник / Под ред. И.М. Скурихина, М.Н. Волгарева. – М.: Агропромиздат, 1987. – 1. – 224 с.; 2. – 360 с.
9. Химия и биохимия бобовых растений: Пер. с англ. К.С. Спектрова / Под ред. М.Н. Запрометова. – М.: Агропромиздат, 1986. – 336 с.
10. Холт С. Соевая революция. Продукт нового тысячелетия / Под ред. М.Л. Доморощенковой. – С.Пб.: ООО "Агенство переводов Атлас", 1998. – 214с.
11. Черонис Н.Д., Ма Т.С. Микро- и полумикрометоды органического функционального анализа: Пер. с англ. А.Л. Либермана / Под ред. В.А. Климова. – М.: Химия, 1973. – 576 с.

КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО КОМПЛЕКСА СОИ

О.Л. Левашова, В.С. Кисличенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено качественное и количественное определение аминокислотного состава и белка в зеленой массе и зерне сои, соевом шроте после извлечения масла и биологически активном комплексе сои. Установлено наличие в них 21 аминокислоты, из которых 10 относятся к незаменимым.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **идентификация, аминокислоты, количественное определение, качественный состав, экстракция, соя, биологически активный комплекс.**

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF AMINOACIDS COMPOSITION AND BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX OF SOYA

O.L. Levashova, V.S. Kyslychenko

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The qualitative and quantitative determination of aminoacid composition and protein in green mass, grain, soybean waste after oil extraction and in biologically active soya complex has been carried out. It has been established the presence in them 21 aminoacids. 10 of them belong to irreplaceable (essential ones).

KEY WORDS: **authentication, aminoacids, quantitative determination, qualitative composition, extraction, soya, biologically active complex.**

Отримано 25.11.2002 р.

Адреса для листування: О.Л. Левашова, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ЗАСТОСУВАННЯ КРЕЗАЦИНУ ТА ФІБРАБЕТУ З МЕТОЮ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У ТВАРИН, УРАЖЕНИХ ТЕТРАХЛОР-МЕТАНОМ, НІТРИТОМ НАТРІЮ ТА НИЗЬКИМИ ДОЗАМИ РАДІАЦІЇ

Л.С. Фіра, Я.І. Гонський

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Застосування крезацину та фібрабету призвело до нормалізації метаболічних порушень у печінці щурів, уражених тетрахлорметаном та нітритом натрію на тлі низькодозового рентгенопроміння. Це підтверджується відновленням синтетичних процесів у печінці, на що вказує використання радіоактивного лейцину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тетрахлорметан, нітрит натрію, рентгенопроміння, метаболічні порушення, анаболічні та катаболічні процеси, крезацин, фібрабет.

ВСТУП. Токсичні ураження різними хімічними речовинами стали важливою проблемою в сучасній медицині та біології. Внаслідок хімізації промисловості та сільського господарства, а також у зв'язку з значною поширеністю токсиманій та алкоголізму, виникає загроза отруєння речовинами, які використовуються людиною та нагромаджуються в довкіллі. Повсякденно людина піддається впливу цих речовин. Зустрічаються випадки комбінованої їх дії на організм, що ускладнює перебіг захворювання [4, 7, 8, 9]. До широко розповсюджених і небезпечних ксенобіотиків належать хлоровані вуглеводні, оксиди азоту, діоксид кремнію, радон та свинець, що містяться в приземному шарі атмосфери у відносно великих концентраціях. У реальному житті нерідко зустрічається комбінована дія декількох токсичних чинників на організм. У промисловості, на хімічних заводах виникає загроза отруєння людей хлорованими вуглеводнями, зокрема тетрахлорметаном [12, 13, 18]. Ці ж люди, споживаючи велику кількість рослинної їжі, яка акумулювала в собі нітрати та нітрити (продукти перетворення азотних добрив), можуть отруїтися ними. Багато нітратів може міститися і в м'ясних продуктах після обробки їх селітрою, що теж становить загрозу для здоров'я людини [6, 10]. Виникає потреба в дослідженні одночасного впливу тетрахлорметану та нітриту натрію на організм людини.

Однією з причин серйозних біологічних та медичних наслідків Чорнобильської аварії є © Л.С. Фіра – к.біол.н., Я.І. Гонський – д.мед.н., проф., 2003.

тривала дія радіації низької інтенсивності. Щоденно людина піддається впливові низьких доз радіації, що може поглибити загальну інтоксикацію організму після ураження хімічними речовинами [1, 2]. Звідси актуальним, обґрунтованим стає вивчення механізмів поєданого впливу хімічних токсинів та рентгеновського опромінення на організм людини.

Для корекції виявлених в організмі тварин порушень, з метою пригнічення активованих окиснювальних процесів, широко використовують антиоксиданти [3, 14], для зменшення навантаження на печінку та зниження ендогенної інтоксикації застосовують ентеросорбенти [13, 16].

Виходячи з вищесказаного, ми поставили мету – вивчити метаболічні порушення у печінці тварин, уражених тетрахлорметаном і нітритом натрію, та вплив на них антиоксиданта крезацину та ентеросорбенту фібрабету.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 24 безпородних білих щурах масою тіла 150-170 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Їх поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – контрольна група (уражені тварини), 3-тя – уражені щури, які отримували антиоксидант крезацин в дозі 20 мг/кг маси тіла (внутрішньоочередово щоденно), 4-та – уражені тварини, які одержували ентеросорбент фібрабет в дозі 1 г/кг (внутрішньошлунково щоденно). Інтенсивність анаболічних процесів у печінці *in vitro* оцінювали з використанням радіоактивної мітки [17].

Гомогенат печінки (1:10) в Кребс-Рінгер фосфатному буфері (рН=7,4) готували на холоді через 4-5 хв після забою тварин. По 2 мл гомогенату переносили в інкубаційні флакони, додавали до них 20 kBq [^{14}C] лейцину та інкубували протягом 1 год при температурі 37 °С. Інкубацію припиняли шляхом додавання 10 % розчину трихлороцтової кислоти. $^{14}\text{CO}_2$, який утворювався в процесі інкубації, вловлювали 20 % NaOH і його радіоактивність визначали на сцинтиляційному лічильнику LKB (Швеція). Гомогенати багаторазово промивали дистильованою водою. Ліпіди екстрагували за методом Фолча. Для визначення радіоактивності окремих класів ліпідів їх розділяли методом тонкошарової хроматографії на силікагелі в системі "гексан-діетиловий ефір-крижана оцтова кислота" (70:30:1). Радіоактивність білків визначали за методом Шорта після вилучення з гомогенатів ліпідів, глікогену та інших низькомолекулярних гідрофільних сполук [5]. Результати піддавали статистичному аналізу з використанням критерію Стьюдента (18). Зміни вважали достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В результаті проведених досліджень встановлено, що використані крезацин та фібрабет проявили позитивний вплив на синтез білків у печінці уражених тварин, про що свідчить достовірне зростання застосування в них радіоактивного лейцину (табл. 1).

При дослідженні метаболізму окремих класів ліпідів в печінці уражених тварин після

корекції крезацином та фібрабетом спостерігалось ось що (табл. 2). Якщо в уражених щурів різко зменшувалося використання радіоактивного лейцину в синтезі фосфоліпідів (ФЛ), то під впливом крезацину відбувалось підвищене його застосування у цьому процесі. Фібрабет не стимулював використання лейцину у синтезі ФЛ.

Після ураження в печінці щурів активувались процеси синтезу холестеролу, триацилгліцеролів та неестерифікованих жирних кислот. Використані нами середники спричинили незначний вплив на них: незначно знизилось застосування [^{14}C] лейцину в синтезі ТАГ та НЕЖК.

При введенні ураженим тваринам крезацину та фібрабету значно підвищився вміст ефірів холестеролу (на 46 % та 27 % відповідно) порівняно з отруєними та опроміненими щурами.

Враховуючи загальну радіоактивність білків, ліпідів та CO_2 , які утворилися протягом 1 год інкубації гомогенату печінки у тварин, які зазнавали ураження впродовж 4 діб, можна відмітити значне зниження її, порівняно з інтактними щурами, в 1,25 раза після застосування крезацину та в 1,15 раза після введення в організм тварин фібрабету.

При інкубації [^{14}C] лейцину з гомогенатом печінки тварин, уражених CCl_4 та NaNO_2 після опромінення (протягом 7 діб), встановлено різке зниження білоксинтезувальної функції і підвищення її після використання крезацину та фібрабету (на 15 та 5 % відповідно) (табл. 3).

Таблиця 1 – Радіоактивність білків, ліпідів і CO_2 (тис. ім./хв на 1 мг білка), які утворюються при інкубації гомогенату печінки з [^{14}C] лейцином в уражених тварин і впливі на них крезацину та фібрабету (4-та доба)

Показники	Інтактні		Уражені		Уражені+крезацин		Уражені+фібрабет	
	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%
Білки	3,98±0,06	77,4	1,82±0,03*	80,2	2,36±0,02**	82,8	2,12±0,04**	81,0
Ліпіди	0,75±0,04	14,5	0,32±0,02*	14,1	0,14±0,01**	4,9	0,17±0,03**	6,5
CO_2	0,41±0,03	8,0	0,13±0,02*	5,7	0,35±0,02**	12,2	0,33±0,01**	12,5

Примітка. Тут і в наступних таблицях * – вірогідні зміни між інтактними та ураженими тваринами;

** – вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами.

Таблиця 2 – Радіоактивність окремих класів ліпідів (тис. ім./хв на 1 мг білка), що утворюються при інкубації гомогенатів печінки з [^{14}C] лейцином у тварин, які зазнавали ураження протягом 4 діб, і впливі на них крезацину та фібрабету ($M \pm m$; $n=6$)

Показники	Інтактні		Уражені		Уражені+крезацин		Уражені+фібрабет	
	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%
ФЛ	0,560±0,002	75,0	0,070±0,005*	21,9	0,080±0,003**	24,9	0,072±0,005	21,9
Хол	0,022±0,001	2,95	0,038±0,007	11,9	0,052±0,002	14,9	0,046±0,004	14,0
ТАГ	0,052±0,003	7,0	0,067±0,001	20,9	0,063±0,001	18,0	0,066±0,002	20,1
НЕЖК	0,075±0,001	10,1	0,112±0,004*	35,2	0,098±0,006	28	0,105±0,09	32,1
Ефіри хол	0,037±0,002	4,95	0,032±0,002	10,1	0,049±0,008	14,0	0,039±0,002	11,8

Застосовані нами середники не проявили позитивного впливу на синтез ліпідів у печінці тварин, які зазнавали ураження протягом 7 днів. Ефективно вплинув на його використання в цих процесах крезацин, частково – фібрабет.

Введення в отруєний організм крезацину призвело до підвищення загальної радіоактивності в печінці в 1,3 раза, а фібрабету – в 1,06 раза.

У таблиці 4 наведено результати досліджень радіоактивності окремих класів ліпідів після розділення їх методом тонкошарової хроматографії.

З таблиці 4 видно, що після опромінення та отруєння CCl_4 і $NaNO_2$ тварин у печінці знижувалось використання радіоактивного лейцину в синтезі ФЛ, яке після введення в

організм крезацину достовірно підвищувалось в сторону норми. Вірогідно збільшувалось застосування міченого лейцину в синтезі ХЛ, ТАГ та НЕЖК в печінці після ураження щурів на 7-й день від початку експерименту.

Позитивний вплив на ці процеси після ураження проявив крезацин, який знижував використання $[U^{14}-C]$ лейцину в кожному з них, наближаючи до рівня інтактних тварин. Під дією крезацину та фібрабету збільшувалась етерифікація холестеролу, яка перевищувала норму.

Таким чином, підсумовуючи результати проведених досліджень, ми встановили позитивний вплив крезацину та частково фібрабету на синтетичні процеси у печінці щурів, уражених тетрахлорметаном та нітритом натрію на тлі рентгенівського опромінення.

Таблиця 3 – Радіоактивність білків, ліпідів і CO_2 (тис. ім./хв на 1 мг білка), які утворюються при інкубації гомогенату печінки з $[U^{14}-C]$ лейцином у тварин, які зазнавали ураження протягом 7 днів, і впливі на них крезацину та фібрабету ($M \pm m$; $n=6$)

Показники	Інтактні		Уражені		Уражені+крезацин		Уражені+фібрабет	
	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%
Білки	3,980±0,060	77,4	2,020±0,020*	78,8	2,670±0,050**	79,4	2,300±0,030**	82,0
Ліпіди	0,750±0,040	14,5	0,360±0,004*	13,6	0,280±0,004**	8,3	0,180±0,001**	6,4
CO_2	0,410±0,030	8,0	0,200±0,006*	7,6	0,410±0,005**	12,2	0,320±0,002**	11,4

Таблиця 4 – Радіоактивність окремих класів ліпідів (тис. ім./хв на 1 мг білка), які утворюються при інкубації гомогенатів печінки з $[U^{14}-C]$ лейцином у тварин, які зазнавали ураження протягом 7 днів, і впливі на них крезацину та фібрабету ($M \pm m$; $n=6$)

Показники	Інтактні		Уражені		Уражені+крезацин		Уражені+фібрабет	
	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%	Тис. ім./хв на 1 мг білка	%
ФЛ	0,560±0,002	75,0	0,097±0,005*	27,0	0,143±0,004**	35,0	0,073±0,003**	22,9
Хол	0,022±0,001	2,95	0,039±0,075*	10,9	0,036±0,003	8,8	0,032±0,002	10,0
ТАГ	0,052±0,003	7,0	0,075±0,001*	20,9	0,061±0,002**	14,9	0,041±0,002**	12,8
НЕЖК	0,075±0,001	10,1	0,108±0,070*	30,3	0,102±0,080	25,0	0,113±0,006	36,1
Ефіри хол	0,037±0,002	4,9	0,039±0,002	10,9	0,065±0,001**	15,9	0,057±0,003**	17,9

ВИСНОВКИ. 1. Комбіноване ураження щурів тетрахлорметаном та нітритом натрію на тлі низькодозової радіації призводить до порушення синтетичних процесів у печінці (знижуються процеси синтезу білків та енергетичні).

2. Застосування крезацину викликало нормалізацію синтезу білків, а також окремих класів ліпідів, що підтверджується в експериментах з використанням радіоактивного лейцину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмельський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журн. – 1994. – **66**, № 4. – С. 3-29.
2. Василенко І.Я. Отдаленная патология комбинированных радиационных поражений // Радиобиологический эксперимент и человек / Под ред. Ю.И. Москалева. – М., 1986. – С. 195-201.
3. Геруш І.В., Мешишен І.Ф. Стан антиоксидант-

- ної захисної системи печінки за умов дії низьких доз радіації та його корекція настоянкою ехінацеї пурпурової // Укр. радіол. журн. – 1999. – № 7. – С. 168-170.
4. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – М.: Медицина, 1986. – 280 с.
5. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.

6. Журавлев В.Ф., Цапков М.М. Токсичность нитратов и нитритов // Гиг. и санит. – 1983. – № 1. – С. 62-65.
7. Ильин Б.Н. Биологические и медицинские аспекты действия малых уровней радиации // Радиационная гигиена: Сб. науч. тр. Ленинград. НИИ радиационной гигиены. – Л., 1986. – С. 27-35.
8. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М.: Медицина, 1982. – 368 с.
9. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления. – М.: Медицина, 1989. – 432 с.
10. Мурхарлямов Н.М., Негреску Е.В., Сазонова Л.Н. и др. Новые подходы к изучению механизма действия нитратов // Гиг. и санит. – 1991. – № 2. – С. 21-26.
11. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – 168 с.
12. Радченко В.Г., Джигинян А.И., Андреева Л.Н. Хронические гепатиты и циррозы печени. – Л., 1989. – С. 31-34.
13. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. Клиническая фармакология гепатопротекторов. – Тернополь, 1995. – 272 с.
14. Чекман І., Горчакова Н., Олійник С. та ін. Динаміка перекисного окислення ліпідів в органах щурів при опроміненні та антиоксидантний ефект суфану // Галиц. лікар. вісник. – 2000. – 7, № 2. – С. 85-89.
15. Шевчук С.Г., Никула Т.Д. Хронические гепатиты // Лік. справа. – 1992. – № 1. – С. 22-26.
16. Шор-Чудновский М.Е., Картель Н.Т., Григорьев А.В. и др. Применение углеродных энтеросорбентов СКН в комплексном лечении больных с обтурационной желтухой // Клинич. хир. – 1988. № 9. – С. 21-25.
17. Янович В.Г., Вовк С.И., Бродин С.В. Метаболизм [3-514 °C]триптофана и [2-514 °C]аланина в тканях крупного рогатого скота // Укр. биохим. журн. – 1991. – № 4. – С. 56-61.
18. Purchase I.F.H., Farrar D.G., Whitaker A. et al. Carbon tetrachloride // Alta. – 1987. – 214, № 3. – P. 183-195.

ПРИМЕНЕНИЕ КРЕЗАЦИНА И ФИБРАБЕТА С ЦЕЛЮ КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ЖИВОТНЫХ, ПОРАЖЕННЫХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ, НИТРИТОМ НАТРИЯ И НИЗКИМИ ДОЗАМИ РАДИАЦИИ

Л.С. Фира, Я.І. Гонский

ТЕРНОПОЛЬСЬКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Применение крезацина и фибрабета привело к нормализации метаболических нарушений в печени крыс, пораженных тетрахлорметаном и нитритом натрия на фоне низкодозового рентгенооблучения. Это подтверждается восстановлением синтетических процессов в печени, на что указывает использование радиоактивного лейцина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тетрахлорметан, нитрит натрия, рентгенооблучение, метаболические нарушения, анаболические и катаболические процессы, крезацин, фибрабет.

USING OF CRESACIN AND FIBRABET FOR CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS IN ANIMALS POISONED BY TETRACHLORMETHAN AND NATRIUM NITRITIS AND LOW DOSES OF RADIATION

L.S. Fira, Ya.I. Honsky

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Using of cresacin and fibrabet caused the normalization of metabolic disorders in liver of rats, poisoned by CCl₄ and NaNO₂ against the background of low doses of X-ray irradiation. It is confirmed by reduction of synthetic processes in liver, after using of radioactive leucyne.

KEY WORDS: tetrachlormethan, natrium nitritis, X-ray irradiation, metabolic disorders, anabolic and catabolic processes, creasacin, fibrabet.

Отримано 17.03.2003 р.

Адреса для листування: Л.С. Фіра, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

АНЕМІЧНИЙ СИНДРОМ У ЩУРІВ З АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ. ЗВ'ЯЗОК ЗІ СТАТУСОМ ВІТАМІНІВ ТА СЕЛЕНУ, ФАРМАКОТЕРАПІЄЮ ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРІЮ І МЕТОТРЕКСАТОМ

І.П. Гунько

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

У дослідіах на 76 щурах встановлено, що формування ад'ювантного артриту в щурів супроводжується розвитком анемічного синдрому, вираження якого корелює зі ступенем активності запального процесу, рівнем медіаторів запалення. Цей синдром поєднує в собі риси залізодефіцитної анемії та анемії хронічного захворювання. Лікування ад'ювантного артриту метотрексатом та диклофенаком натрію поглиблює прояви анемії, трансформуючи її мікроцитарний варіант у макроцитарний. Виникнення анемічного синдрому при ад'ювантному артриті тісно пов'язане з мікронутрієнтною недостатністю, а застосування фолієвої кислоти та, особливо, комплексу вітамінів B₉, B₁, B₂, B₆, A, E й селену значною мірою коректує вираження анемії, індукованої запаленням та фармакотерапією.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: анемія, ад'ювантний артрит, диклофенак натрію, метотрексат, вітаміни, селен.

ВСТУП. Анемія є практично постійним супутником ревматоїдного артриту (РА). Причини анемізації хворих на РА, як правило, пов'язують з депримуєчим впливом медіаторів запалення на гемопоез, стимулюванням процесів апоптозної загибелі клітин-попередників [9, 12]. Однак слід враховувати і такий важливий фактор, як мікронутрієнтна недостатність, яка теж супроводжує перебіг РА [10, 13] і тісний зв'язок вітамінів та мікроелементів з проліферацією клітин, синтезом гему, всмоктуванням та транспортом заліза. Тому формування анемії при РА відбувається на фоні вітамінного дефіциту, зменшеного надходження заліза та інших мікроелементів.

Метою роботи було оцінити стан гемопоезу та ферокінетики в процесі формування та лікування ад'ювантного артриту, дослідити їх зв'язок з активністю запального процесу та мікронутрієнтним статусом щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 76 щурах. Ад'ювантний артрит (АА) моделювали шляхом введення в задню лапку тварин 0,1 мл ад'юванту Фрейнда (2 частини вазеліну, 1 частина ланоліну та вакцина БЦЖ – 5 мг/мл). Динаміку АА оцінювали за об'ємом ураженої лапки та вмістом нітритів і нітратів, кількість яких визначали за реакцією Гріса [6].

© І.П. Гунько, 2003.

Під час дослідів тварини перебували протягом 1 місяця на напівсинтетичному раціоні, який забезпечує надходження оптимальної кількості незамінних нутрієнтів [4]. Він включав 20 % казеїну, 65 % крохмалю, 5 % смальцю, 5 % соняшникової олії, 3 % суміші солей, 1 % целюлози та всі вітаміни в необхідних для щурів кількостях [4].

Диклофенак натрію в дозі 2,5 мг/кг вводили перорально протягом 2-х тижнів, починаючи з 14 дня після введення ад'юванту, а метотрексат у дозі 0,2 мг/кг – з 8 по 28 день. В окремі групи метотрексат (0,2 мг/кг) вводили разом з диклофенаком натрію (2,5 мг/кг). Частина щурів цієї групи протягом 2-х тижнів отримувала фолієву кислоту (0,2 мг/кг) або комплекс вітамінів, що включав фолієву кислоту (0,2 мг/кг), ретинол (3000 МО/кг), токоферол (20 мг/кг), тіамін (5 мг/кг), рибофлавін (2 мг/кг), піридоксин (2 мг/кг) та селеніт натрію (30 мкг/кг).

Вміст ретинолу визначали флуориметричним методом, токоферолу – за реакцією Еммері-Енгеля [4], аскорбінової кислоти (АК) – за реакцією з 2,6-дихлорфеноліндофенолом [8]. Забезпеченість тіаміном, рибофлавіном та піридоксином оцінювали за ступенем активації в еритроцитах транскетолази, глутатіонредуктази та аспартатамінотрансферази при додаванні, відповідно, тіаміндифосфату (ТДФ-ефект), ФАД (ФАД-ефект), піридоксаль-

фосфату (ПАЛФ-ефект) [4, 8]. Статус вітаміну V_{12} визначали за екскрецією із сечею метилмалонової кислоти (ММК), кількість якої оцінювали в реакції діазотування [7]. Рівень селену в сироватці крові визначали кінетичним методом [1], а гомоцистеїну – методом рідинної хроматографії [5].

Вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, гематокрит, середній об'єм еритроцитів (MCV) та середній вміст гемоглобіну (MCH) в еритроциті, рівень заліза та залізов'язувальну здатність сироватки крові (ЗЗС) визначали уніфікованими методами [3]. Негемове залізо досліджували в гомогенаті печінки після екстракції гемового заліза органічним розчинником. Активність гемоксигенази в мікросомній фракції печінки визначали за утворенням білірубіну [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Досліди показали, що в щурів з моделлю АА розвивається і прогресує набряк кінцівки, об'єм якої на 28-й день виявився на $(26,0 \pm 1,9)$ % більшим, ніж на 14-й день. Рівень нітратів та нітритів на 14-й день перевищував такий у інтактних тварин у 3,4 раза (відповідно, $(61,80 \pm 4,46)$ та $(18,00 \pm 1,80)$ мкмоль/л), а на 28-й день – у 4,5 раза $((81,20 \pm 4,82)$ мкмоль/л).

У процесі розвитку АА відбувається формування анемічного синдрому (табл. 1), що проявляється зниженням рівня гемоглобіну (на 23 % на 28-й день досліджу), кількості еритроцитів та MCH, вмісту сироваткового заліза (на 34 % на 28-й день). Цікавим моментом є те, що ЗЗС не тільки не зростала, але навіть трохи зменшувалась (на 16 % на 28-й день),

що свідчило про розвиток анемії, але не залізодефіцитної, якій властиве збільшення загальної та латентної ЗЗС, а анемії хронічного захворювання, яка характеризується зниженням вищезгаданих показників. Ми спостерігали двофазну динаміку негемового заліза печінки – на 14-й день реєструвалось підвищення його вмісту на 24 %, але пізніше він знижувався на 37 %, що свідчило про виснаження запасів заліза. Стимулювалось і руйнування гемоглобіну. Активність гемоксигенази – основного ферменту деградації гему – зростала і на 28-й день перевищувала контроль на 140 %. Причетність автоімунного запалення до формування анемії підтверджено кореляційним аналізом. Найтісніше маркери запалення корелювали з гемоглобіном, сироватковим залізом, негемовим залізом та активністю гемоксигенази.

Формування АА супроводжується розвитком мікронутрієнтної недостатності. На 28-й день досліджу рівень ретинолу в сироватці крові зменшувався з (467 ± 33) до (345 ± 20) мкг/л, токоферолу – з $(9,62 \pm 0,59)$ до $(6,82 \pm 0,36)$ мг/л. Погіршувався також і статус похідних вітамінів. Вміст у сироватці крові гомоцистеїну (інтегральний показник, який відображає забезпеченість фолієвою кислотою, вітамінами V_6 та V_{12}) підвищувався з $(14,70 \pm 1,06)$ до $(25,40 \pm 1,52)$ мкмоль/л. Вміст АК у печінці знижувався зі (166 ± 13) до $(133,0 \pm 8,3)$ мкг/г, а селену в сироватці крові – з $(49,80 \pm 1,45)$ до $(43,70 \pm 1,77)$ мкг/л.

Між індукованими запаленням, змінами мікронутрієнтного статусу та гемопоезу і ферокінетики виникають кореляційні залежності (табл. 2). Найбільшою мірою зі статусом

Таблиця 1 – Показники обміну заліза і червоної крові в процесі розвитку ад'ювантного артриту в щурів ($M \pm m$; $n=6-10$)

Показники гемопоезу та обміну заліза	Контроль $n=10$	На 14-й день $n=6$	На 28-й день $n=10$	Кореляція з	
				набряком кінцівки	метаболітами оксиду азоту
Гемоглобін крові, г/л	$148,0 \pm 2,1$	$116,5 \pm 2,5^*$	$113,4 \pm 2,9^*$	-0,46	-0,45
Еритроцити, 10^9 /л	$5,37 \pm 0,11$	$4,98 \pm 0,09$	$4,80 \pm 0,09^*$	-0,26	-0,38
MCV, фл	$88,50 \pm 1,51$	$84,00 \pm 1,24$	$83,40 \pm 1,36^*$	-0,28	-0,29
MCH, пг/еритроцит	$27,70 \pm 0,66$	$23,40 \pm 0,46^*$	$23,70 \pm 0,53^*$	-0,32	-0,37
Залізо сироватки крові, мкмоль/л	$25,00 \pm 0,80$	$19,00 \pm 0,99^*$	$16,40 \pm 0,59^*$	-0,51	-0,48
Загальна ЗЗС, мкмоль/л	$62,90 \pm 2,15$	$55,10 \pm 1,52^*$	$52,90 \pm 1,39^*$	0,47	0,41
Латентна ЗЗС, мкмоль/л	$38,00 \pm 2,20$	$51,70 \pm 1,56^*$	$36,50 \pm 1,88^*$	0,47	0,41
Негемове залізо печінки, мкмоль/г	$1,53 \pm 0,05$	$1,89 \pm 0,04^*$	$0,96 \pm 0,02^*$	-0,50	-0,51
Гемоксигеназа мікросом печінки, нмоль/хв/мг білка	$0,10 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,01^*$	$0,24 \pm 0,01^*$	0,43	0,50

Примітка. * – достовірні відмінності стосовно групи "Контроль"; кореляції між показниками визначали станом на 28-й день.

вітамінів та селену корелюють рівень гемоглобіну, заліза в сироватці крові та печінці, активність гемоксигенази печінки, менш значущими були залежності з кількістю еритроцитів, MCV, MCH. Серед мікронутрієнтів найбільший зв'язок з анемічним синдромом виявляли ретинол, токоферол та показник статусу вітамінів B₂, B₉ та B₁₂ – гомоцистеїн. Менш тісними були залежності з АК, селеном, статусом тіаміну та рибофлавіну. Звертає на себе увагу

сильний зв'язок об'єму еритроцитів (MCV) зі статусом фолату та вітаміну B₆.

Як видно з таблиць 3 та 4, застосування диклофенаку натрію дещо посилює вираження анемічного синдрому та дефіциту заліза в щурів з АА. Призначення метотрексату менше впливало на рівень гемоглобіну та заліза, але викликало істотне зниження кількості еритроцитів при одночасному зростанні їх об'єму (MCV). Останнє, очевидно, є наслідком антифолатних

Таблиця 2 – Коефіцієнти кореляції між показниками гемопоезу і ферокінетики та мікронутрієнтного статусу в щурів з АА

Показники гемопоезу і ферокінетики	Ретинол	Токоферол	ТДФ-ефект	ФАД-ефект	ПАЛФ-ефект	ММК	Гомоцистеїн	АК	Селен
Гемоглобін	0,39	0,40	-0,33	-0,41	-0,40	-0,47	-0,49	0,36	0,40
Еритроцити	0,35	0,36	-0,37	-0,35	-0,38	-0,43	-0,41	0,40	0,44
MCV	0,13	0,03	-0,08	-0,02	0,15	0,52	0,55	-0,29	-0,45
MCH	0,33	0,34	-0,18	-0,31	-0,39	-0,48	-0,42	0,31	0,35
Залізо	0,40	0,47	0,32	0,40	-0,48	-0,47	-0,38	0,48	0,47
Загальна ЗЗС	-0,46	-0,40	0,39	0,41	0,38	0,30	0,31	-0,37	-0,42
Латентна ЗЗС	-0,46	-0,39	0,21	0,44	0,29	0,13	0,26	-0,39	-0,46
Негемове залізо печінки	0,52	0,53	-0,35	-0,40	-0,42	-0,47	-0,39	0,43	0,39
Гемоксигеназа печінки	-0,47	-0,48	0,39	0,36	0,33	0,41	0,46	-0,26	-0,39

Таблиця 3 – Стан гемопоезу у щурів з ад'ювантним артритом при різних варіантах лікування (M±m, n=10)

Групи тварин	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, 10 ¹² /л	MCV, фл	MCH, пг/еритроцит
Інтактні щури	148,00±2,14	5,37±0,11	88,50±1,51	27,70±0,66
Ад'ювантний артрит				
Без лікування	113,40±2,88	4,80±0,09	83,40±1,36	23,70±0,53
Диклофенак	104,50±1,70*	4,61±0,10	83,80±0,90	22,7±0,38
Метотрексат	112,40±2,48	3,93±0,06*	106,20±1,07*	28,60±0,64*
Диклофенак+метотрексат	102,00±2,54*	3,67±0,07*	110,30±2,35*	27,8±0,50*
Диклофенак+метотрексат+фолат	128,40±2,80*	4,67±0,09	93,10±1,80*	27,5±0,18*
Диклофенак+метотрексат+фолат+вітаміни А, Е, В ₁ , В ₂ , В ₆ , селен	139,30±3,20*	4,99±0,08	89,60±2,01*	27,90±0,46*

Примітка. * – достовірна відмінність стосовно групи "Артрит без лікування".

Таблиця 4 – Показники ферокінетики в щурів з ад'ювантним артритом при різних варіантах лікування (M±m, n=10)

Групи тварин	Залізо сироватки, мкмоль/л	Загальна ЗЗС, мкмоль/л	Латентна ЗЗС, мкмоль/л	Негемове залізо печінки, мкмоль/г	Гемоксигеназа печінки, нмоль/хв/мг білка
Інтактні щури	25,0±0,80	62,9±2,2	38,0±2,2	1,53±0,05	0,10±0,01
Ад'ювантний артрит					
Без лікування	16,40±0,59	52,9±1,4	36,5±1,9	0,96±0,02	0,240±0,014
Диклофенак	14,30±0,59	53,6±1,7	39,3±2,3	0,85±0,03*	0,220±0,011
Метотрексат	15,70±0,50	52,8±1,3	37,1±1,5	0,96±0,04	0,220±0,015
Диклофенак+метотрексат	14,10±0,62	50,5±1,1	36,5±1,9	0,81±0,04*	0,200±0,011*
Диклофенак+метотрексат+фолат	17,00±0,59	56,5±1,3	39,5±1,9	1,06±0,04*	0,180±0,010*
Диклофенак+метотрексат+фолат+вітаміни А, Е, В ₁ , В ₂ , В ₆ , селен	20,8±0,7*	58,7±1,5*	37,9±2,1	1,22±0,05*	0,140±0,010*

Примітка. * – достовірна відмінність стосовно групи "Артрит без лікування".

властивостей метотрексату. Поєднання диклофенаку натрію з метотрексатом характеризувалось сумуванням негативного впливу препаратів на червону кров та ферокінезику.

Застосування фолату істотно послабило негативний вплив протизапальної терапії на організм щурів, і у тварин, що отримували диклофенак натрію та метотрексат на фоні додаткового введення фолієвої кислоти. Однак лише комплекс вітамінів та селену забезпечував максимальну захисну дію. Вміст гемоглобіну, заліза в сироватці крові та печінці, ЗЗС, МСV та МСН вже мало відрізнялись від контролю.

Таким чином, дослідження показали, що автоімунний процес супроводжується розвитком анемічного синдрому, який поєднує в собі риси залізодефіцитної анемії та анемії хронічного захворювання. Протизапальна терапія не тільки не усуває анемічного синдрому, але й істотно його поглиблює. За умов поєднання диклофенаку натрію з метотрексатом анемія з мікроцитарної (характерна риса анемії хронічного захворювання) перетворюється на макроцитарну. Властива риса фолієводефіцитної анемії, тобто анемічний синдром при АА має змішане походження.

Щодо механізмів формування анемічного синдрому, то на перший план, очевидно, виступає посилення продукції прозапальних цитокінів, які чинять прямий інгібуючий вплив на еритропоез [9, 12]. Однак патогенез анемії не обмежується лише цими механізмами і включає індуковані запаленням порушення депонування та вивільнення заліза із сидеробластів, недостатню продукцію еритропоетину, наявність антитіл проти еритропоетину тощо [15]. Зв'язок анемії та запалення підтверджується і тісною кореляцією показників гемопоезу з метаболітами оксиду азоту. Відомо, що оксид азоту через зміну редокс-статусу залізорегулювальних білків блокує транспорт заліза [14], що може лімітувати його доставку для синтезу гему. Ще одним патогенетичним мо-

ментом є активація процесів деградації гему.

Важливою причиною анемізації організму, на нашу думку, є індукована автоімунним процесом мікронутрієнтна недостатність. Відомо, що недостатність кожного з вивченого нами нутрієнтів є тією чи іншою мірою супроводжується розвитком анемії. Вітаміни мають відношення до всмоктування заліза в кишечнику (рибофлавін, АК, ретинол), стабільності мембран і експресії клітинних рецепторів для трансферину (токоферол, ретинол), до транскрипційної регуляції еритропоезу (ретинол, токоферол) [4, 11, 14]. Відомо, що вітаміни В₉ та В₁₂ сприяють виникненню макроцитарних анемії. Достовірність "дефіцитного" механізму формування анемічного синдрому при АА підтверджується також і високою ефективністю комплексу вітамінів та селену в корекції проявів анемії у щурів з АА.

ВИСНОВКИ. 1. Формування АА в щурів супроводжується розвитком анемічного синдрому, який поєднує в собі риси залізодефіцитної анемії та анемії хронічного захворювання і проявляється мікроцитозом, зниженням рівня гемоглобіну, сироваткового заліза та ЗЗС, негемового заліза в печінці та активацією гемоксигенази.

2. Лікування АА диклофенаком натрію та метотрексатом поглиблює анемічний синдром, трансформуючи його мікроцитарний варіант у макроцитарний.

3. Генез анемічного синдрому при АА тісно пов'язаний з мікронутрієнтною недостатністю, що підтверджується тісними кореляційними зв'язками між показниками статусу вітамінів і селену та показниками гемопоезу і ферокінезики.

4. Призначення фолієвої кислоти, а особливо комплексу вітамінів із селеном, здатне зменшувати вираження анемічного синдрому, індукованого запаленням та фармакотерапією диклофенаком натрію і метотрексатом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ефременко О.А., Краснюк И.И., Руденко Б.А. и др. Кинетический метод определения селена в биологическом материале // Журн. аналитич. химии. – 1985. – **15**, № 11. – С. 2012-2016.
2. Калиман П.А., Беловецкая И.В. Влияние хлорида кобальта на активность ключевых ферментов метаболизма гема в печени крыс // Биохим. – 1986. – **51**, вып. 8. – С. 1302-1307.
3. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
4. Островский Ю.М. Экспериментальная вита-

минология. – Минск: Наука и техника, 1979. – 550 с.

5. Пентюк О.О., Ильченко О.В., Шевчук С.В. та ін. Визначення концентрації гомоцистеїну в біологічних рідинах методом високоефективної рідинної хроматографії // Мед. хімія. – 2001. – **3**, № 3. – С. 61-67.

6. Сиггя С., Ханна Д.Г. Количественный органический анализ по функциональным группам. – М.: Химия, 1983. – 672 с.

7. Снегирева Л.В., Арешкина Л.Я. Метод определения метилмалоновой кислоты // Приклад. биохим. и микробиол. – 1972. – **8**, № 3. – С. 363-366.

8. Спиричев В.Б. Методы оценки и контроля витаминной обеспеченности населения. – М.: Наука. – 1984. – 170 с.

9. Bertero M.T., Caligaris-Cappio F. Anaemia of chronic disorders in systemic autoimmune diseases // Haematologica. – 1997. – **82**, № 3. – P. 375-381.

10. Helgoland M., Svendsen E., Forre O., Haugen M. Dietary intake and serum concentrations of antioxidants in children with juvenile arthritis // Clin. Exp. Rheumatol. – 2000. – **18**, №5. – P. 637-641.

11. Irwin J.J. Kirchner J.T. Anaemia in children // Am. Fam. Physician. – 2001. – **64**, № 8. – P. 1379-1386.

12. Papadaki H.A., Kritikos H.D., Valatas V. et al. Anaemia of chronic disease in rheumatoid arthritis is associated with increased apoptosis of bone marrow

erythroid cells: improvement following anti-tumor necrosis factor-alpha antibody therapy // Blood. – 2002. – **100**, № 2. – P. 474-482.

13. Paredes S., Girona J., Hurt-Camejo E. et al. Antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis: association with inflammatory markers // J. Rheumatol. – 2002. – **29**, № 11. – P. 2271-2277.

14. Ponka P. Tissue-Specific Regulation of Iron Metabolism and Heme Synthesis: Distinct Control Mechanisms in Erythroid Cells // Blood. – 1997. – **89**, № 1. – P. 1-25.

15. Weiss G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease // Blood Rev. – 2002. – **16**, № 2. – P. 87-96.

АНЕМИЧЕСКИЙ СИНДРОМ У КРЫС С АДЬЮВАНТНЫМ АРТРИТОМ. СВЯЗЬ СО СТАТУСОМ ВИТАМИНОВ И СЕЛЕНА, ФАРМАКОТЕРАПИЕЙ ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРИЯ И МЕТОТРЕКСАТОМ

И.П. Гунько

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

Резюме

В исследованиях на 76 крысах установлено, что формирование адьювантного артрита у крыс сопровождается развитием анемического синдрома, выраженность которого коррелирует со степенью активности воспалительного процесса, уровнем медиаторов воспаления. Этот синдром соединяет в себе черты железодефицитной анемии и анемии хронического заболевания. Лечение адьювантного артрита метотрексатом и диклофенаком натрия усиливает проявления анемии, трансформируя ее микроцитарный вариант в макроцитарный. Возникновение анемического синдрома при адьювантном артрите тесно связано с микронутриентной недостаточностью, а применение фолиевой кислоты и, особенно, комплекса витаминов В₁, В₉, В₂, В₆, А, Е и селена существенно корректирует выраженность анемии, индуцированной воспалением и фармакотерапией.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: анемия, адьювантный артрит, диклофенак натрия, метотрексат, витамины, селен.

ANAEMIC SYNDROME IN RATS WITH ADJUVANT ARTHRITIS. CORRELATION WITH STATUS OF VITAMINS AND SELENIUM, PHARMACOTHERAPY BY NATRIUM DICLOPHENAC AND METHOTREXATE

I.P. Gunko

VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

The investigation were carried out on 76 white rats. It was estimated that formation of adjuvant arthritis in the rats is accompanied by development of anaemic syndrome. It is correlation between of expressiveness of this syndrome and degree of the activity of inflammatory process, level of inflammatory mediator. This syndrome contains signs of iron-deficient anaemia and anaemia of chronic disease. Pharmacotherapy of adjuvant arthritis by natrium diclophenac and methotrexate increases manifestations of anaemia, transforming its microcellular variant to macrocellular. Beginning of anaemia syndrome is connected with polynutrient insufficiency. Folate administration, especially polyvitaminic complex (B₉, B₁, B₂, B₆, A, E) and selenium administration, correct expressiveness of anaemia, induced by inflammation and pharmacotherapy.

KEY WORDS: anaemia, adjuvant arthritis, natrium diclophenac, methotrexate, vitamins, selenium.

Отримано 29.11.2002 р.

Адреса для листування: І.П. Гунько, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ МОДУЛЮВАЛЬНОГО ВПЛИВУ ЕЛАГОТАНІНОВІСНИХ ПРЕПАРАТІВ НА АКТИВНІСТЬ ПРООКСИДНИХ ФЕРМЕНТІВ

Л.В. Яковлева, Є.М. Горбань, Т.С. Сахарова
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено дослідження модулювального впливу оригінальних препаратів на основі елаготанінів на активність прооксидних ферментів ксантиноксидази і ліпооксигенази, порівняно з відомим біофлавоноїдним препаратом кверцетином. Встановлено виразну здатність альтану та елагової кислоти гальмувати ксантиноксидазну реакцію, що перевершує таку референс-препарату. За здатністю пригнічувати лейкотрієнозумовлені запальні реакції альтан та елагова кислота не поступаються кверцетину – препарату з відомою антиліпооксигеназною активністю.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: елаготаніни, ксантиноксидаза, ліпооксигеназа, антиоксидна активність.

ВСТУП. Однією з найважливіших умов активації вільнорадикального окиснення (ВРО) як у фізіологічних, так і в патологічних умовах вважається утворення активних форм кисню (АФК), а саме: супероксиданіону, гідроксильного радикала, синглетного кисню. Генерація АФК має місце у електронотранспортних ланцюгах мітохондрій і міросом, клітинах крові та тканин під час фагоцитозу, при метаболізмі арахідонової кислоти та аденілових нуклеотидів тощо. Діяльність окремих, так званих прооксидних ферментів є провідним провокуючим фактором у патогенезі вільнорадикальних патологій серцево-судинної, дихальної систем, травного тракту, печінки тощо. І навпаки, пригнічення ферментативних шляхів утворення АФК виключає ймовірність розвитку оксидативного стресу [1, 2]. На даний час у науковій літературі досить широко обговорюється антиксантиноксидазна та антиліпооксигеназна активність рослинних поліфенольних сполук – окремих флавоноїдів, дубильних речовин [3, 4, 5]. Вищевикладене визначило доцільність експериментального вивчення модулювального впливу альтану і елагової кислоти – оригінальних елаготаніновмісних препаратів – на активність ферментів, причетних до генерації АФК у біологічних і модельних системах,

зокрема ксантиноксидази та ліпооксигенази, порівняно з відомим біофлавоноїдним препаратом кверцетином.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження гальмівного впливу елаготаніновмісних препаратів та референс-препарату кверцетину на активність ферменту ксантиноксидази проводили в умовах *in vitro* за реакцією перетворення ксантину в сечову кислоту в середовищі з K^+ -фосфатним буфером (рН 7,4) та активатором ферменту – іонами Na^+ . Концентрацію сечової кислоти визначали спектрофотометрично при $\lambda=295$ нм, у розрахунках активності ферменту використовували коефіцієнт молярної екстинкції: $7,59 \cdot 10^3$ $M^{-1}cm^{-1}$ [4].

Втручання препаратів у ліпооксигеназний шлях катаболізму арахідонової кислоти визначали на моделях зимозанового набряку стопи у білих щурів та декстранового запалення вуха в білих мишей, у механізмах розвитку яких провідну роль відіграють лейкотрієни [6, 7]. В обох випадках для точнішої характеристики антиліпооксигеназної активності здійснювали порівняння ефекту препаратів із стандартним інгібітором ліпооксигенази/циклооксигенази BW-755C [6]. Асептичне ексудативне запалення, у якому роль флогогену належить зимозану, моделювали на білих щурах масою 160-190 г. Зимозан вводили тваринам субплантарно в

© Л.В. Яковлева – д.фарм.н., проф., Є.М. Горбань – д.мед.н., проф., Т.С. Сахарова – к.фарм.н., 2003.

дозі 0,1 мл у вигляді 2 % суспензії [7]. Досліджувані препарати шури отримували перорально за 1 год до ін'єкції флоготропного агента (альтан і елагова кислота – в 1 мг/кг, кверцетин – 5 мг/кг). BW-755C застосовували у рекомендованій авторами дозі – 16 мг/кг [6]. Ступінь набряку оцінювали за різницею між вихідним об'ємом стопи і таким, що визначався у певні терміни дослідження – через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 і 24 год після введення зимозану. Активність розраховували порівняно з контрольною патологією і виражали у відсотках гальмування ступеня набряку. Для відтворення декстранової запальної патології декстран Т-500 у концентрації 60 мг/мл вводили білим мишам масою 20-24 г внутрішньовенно (у хвостову вену) в дозі 0,1 мл на 10 г маси тіла. Одночасно у цей же розчин вводили барвник – 0,25 % розчин синього Еванса. Досліджувані субстанції тварини отримували перорально в умовно-терапевтичних дозах за 1 год до введення декстрану. Спектрофотометрично при $\lambda=620$ нм визначали інтенсивність забарвлення екстракційних розчинів, отриманих після відповідної обробки шматочків вуха мишей, евтаназію яких здійснювали у ефірній камері через 90 хв після ін'єкції флогістику. Здатність препаратів гальмувати розвиток декстранового набряку розраховували за зменшенням інтенсивності забарвлення і виражали у відсотках відносно нелікованих тварин [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. На рисунку 1 наведено результати дослідження антиксантинооксидазної активності альтану і елагової кислоти порівняно з кверцетином. Підвищення у реакційному середовищі концентрації елаготаніновмісних препаратів з 2 мкг/мл проявлялось пропорційним пригніченням активності ферменту. Для альтану максимальне вираження ефекту становило в концентрації 12 мкг/мл ($60,1 \pm 4,8$ %), для елагової кислоти – ($75,0 \pm 2,6$ %). Гальмування реакції перетворення ксантину на сечову кислоту під впливом кверцетину відбувалось у дуже вузькому діапазоні концентрацій – 0,1-0,2 мкг/мл. З підвищенням вмісту референс-препарату у реакційному середовищі залежність "концентрація-активність" набувала непропорційного характеру. За таких умов отримані результати дозволяють оцінити антиксантинооксидазний ефект елаготаніновмісних препаратів як більш сталий, ніж кверцетину, і дають підстави для обговорення не лише прямої, але й опосередкованої антиоксидантної активності альтану і елагової кислоти – ори-

гінальних препаратів на основі рослинних елаготанінів.

Результати дослідження впливу альтану і елагової кислоти на формування зимозанового набряку стопи у білих щурів порівняно з кверцетином, які віддзеркалюють імовірність втручання препаратів у ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти, представлено на рисунку 2.

Зимозан – структурний дріжджовий полісахарид, який специфічно сполучається з мембраною фагоцитувальних лейкоцитів і внаслідок активації останніх проковує локальну запальовальну реакцію. Характерною особливістю обраної запальної моделі, з урахуванням механізмів її розвитку, є досягнення максимуму набряку, зумовленого переважно впливом лейкотрієнів, на 30-й хвилині після введення флогогену. За таких умов стандартний інгібітор

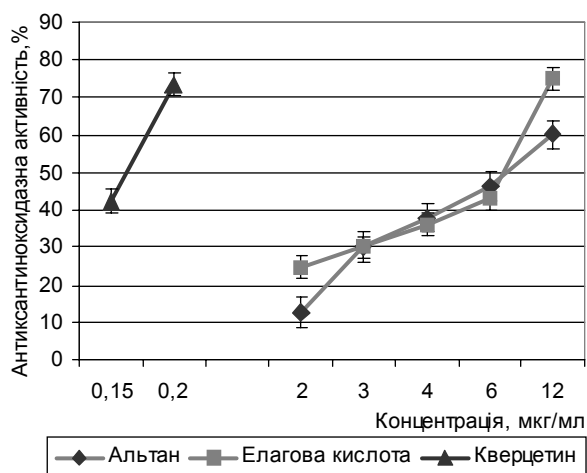


Рис. 1. Вплив альтану, елагової кислоти і кверцетину на активність ферменту ксантинооксидази.

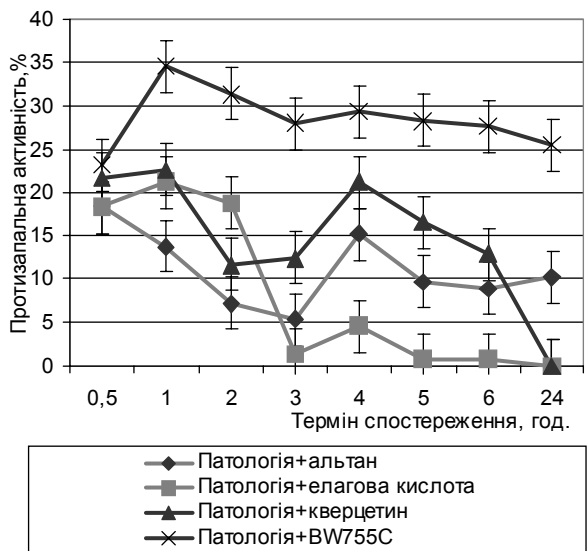


Рис. 2. Протизапальна активність досліджуваних препаратів на моделі зимозанового набряку стопи у білих щурів.

ліпооксигенази BW755C з достовірною розбіжністю від контрольної патології гальмував розвиток набряку стопи у білих щурів на 30-й хвилині експерименту на 23,1 %, на 1-й годині – на 34,5 % (рис. 2). Здатність згаданого фармакологічного агента пригнічувати зимозанове запалення зберігалась на рівні 30 % до наступної доби. Антифлогістичний ефект альтану був достовірно значущим у перший термін дослідження, надалі зменшувався до невіррогідних значень, хоча на 4-й годині ще відзначалося незначне підвищення активності (рис. 2). Застосування елагової кислоти достовірно стримувало розвиток набряку до 2-ї години спостереження та зумовлювало в подальшому поступове зникнення ефекту (рис. 2). Під впливом кверцетину простежувалась регресія набряку з достовірною розбіжністю від контрольної патології через 0,5 та 4 год після ін'єкції зимозану. Виразне пригнічення набряку зберігалось і на 1-й годині дослідження, але мало невіррогідний характер. Отже, результати проведених досліджень доводять наявність у альтану і елагової кислоти здатності пригнічувати зимозановий набряк стопи в білих щурів у початкові терміни його формування, що опосередковано може свідчити про модуляцію активності ліпооксигенази у осередку запалення аналогічно кверцетину. З досліджуваних препаратів кверцетин та, дещо менше, альтан виявились ефективними на другій стадії зимозанового набряку, що не виключає їхнього впливу на обмін інших медіаторів запалення (серотоніну, кінінів тощо).

Для підтвердження даних стосовно гальмівного впливу елаготаніновмісних препаратів на активність ферменту ліпооксигенази було проведено додаткове дослідження в умовах іншої моделі запальної патології, в патогенезі якої провідне місце посідає саме активація ліпооксигеназного шляху утворення ейкозаноїдів.

З рисунка 3 видно, що альтану, елаговій кислоті та кверцетину притаманна здатність пригнічувати декстранове запалення, хоча ефективність жодного з досліджуваних природних препаратів не досягала меж стандартного інгібітора ліпооксигенази/циклооксигенази.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник Рос. АМН. – 1998. – № 7. – С. 43-51.
2. Byung Pal Yu. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species // *Physiol. Rev.* – 1994. –

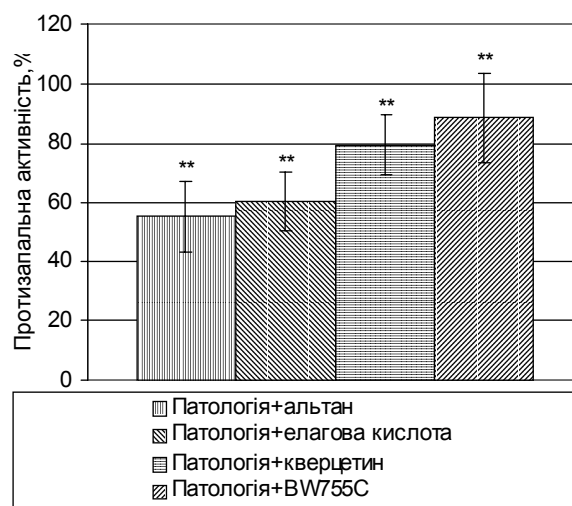


Рис. 3. Протизапальна активність досліджуваних препаратів на моделі декстранового набряку вуха у білих мишей.

Примітка. ** – розбіжність достовірна, порівняно з нелікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Найдієвішим виявилось застосування кверцетину. В усіх зазначених випадках розвиток запалення стримувався з достовірною розбіжністю від нелікованих тварин.

Таким чином, у дослідях з декстрановим запаленням вуха у білих мишей підтверджено наявність гальмівного впливу альтану і елагової кислоти на функціонування ліпооксигеназного шляху утворення вільних радикалів.

ВИСНОВКИ. 1. В умовах *in vitro* встановлено виразну здатність альтану та елагової кислоти – оригінальних елаготаніновмісних препаратів – гальмувати ксантиноксидазну реакцію, яка є одним із провідних чинників генерації радикальних форм кисню в умовах патології.

2. Показано, що за здатністю пригнічувати лейкотрієнозумовлені запальні реакції альтан та елагова кислота не поступаються кверцетину – препарату з відомою антиліпооксигеназною активністю.

3. Доведено, що однією із складових механізму антиоксидної дії альтану і елагової кислоти – оригінальних рослинних препаратів на основі елаготанінів – є наявність гальмівного впливу на активність прооксидних ферментів ксантиноксидази і ліпооксигенази.

74, № 1. – P. 139-162.

3. Ferguson L.R. Role of plant polyphenols in genomic stability // *Mutation Research.* – 2001. – № 475. – P. 89-111.

4. Hatano T., Yasuhara T., Yoshihara R., Agata I.,

Noro T., Okuda T. Effects of interaction of tannins with co-existing substances. VII. Inhibitory effects of tannins and related polyphenols on xanthine oxidase // Chem. Pharm. Bull. – 1990. – **38**, № 5. – P. 1224-1229.

5. Owen PL., Johns T. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout // J. Ethnopharmacol. – 1999. – № 64(2). – P. 149-160.

6. Wauwe van J.P., Goossens J.G. Arabino-galactan-and dextran-induced ear inflammation in mice: differential inhibition by H1-antihistamines, 5-HT-serotonin antagonists and lipoxygenase blockers // Agents and Actions. – 1989. – **28**, № 1-2. – P. 78-82.

7. Gado K., Gigler G. Zymozan inflammation: a new method suitable for evaluating new antiinflammatory drugs // Agents and Actions. – 1991. – **32**, № 1-2. – P. 119-121.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МОДУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ЭЛЛАГОТАНИНСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ ПРООКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Л.В. Яковлева, Е.Н. Горбань, Т.С. Сахарова
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведено исследование модулирующего влияния оригинальных препаратов на основе эллаготанинов на активность прооксидных ферментов ксантиноксидазы и липооксигеназы, по сравнению с известным биофлавоноидным препаратом кверцетином. Установлено выраженную способность алтана и эллаговой кислоты тормозить ксантиноксидазную реакцию, превосходящую таковую референс-препарата. По способности угнетать лейкотриенообусловленные воспалительные реакции алтан и эллаговая кислота не уступают кверцетину – препарату с известной антилипооксигеназной активностью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **эллаготанины, ксантиноксидаза, липооксигеназа, антиоксидная активность.**

EXPERIMENTAL STUDY OF MODULATING INFLUENCE ELLAGOTANNIN-CONTAINING DRUGS ON ACTIVITY OF PROOXYDATIVE ENZYMES

L.V. Yakovleva, Ye.N. Gorban, T.S. Sakcharova
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

It has been carried out the study of modulating influence of original drugs on a basis of ellagotannins on activity of prooxydative enzymes of xanthinoxidase and lipoxygenase in comparison with Quercetinum – bioflavonoid drug. It has been fixed the expressed ability of Altan and Ellagic acid to inhibition of xanthinoxidative reaction superior those of a reference-drug. By ability to depress leicotrien inflammatory reactions Altan and Ellagic acid do not concede to Quercetinum – drug with known antilipoxygenase-conditioned activity.

KEY WORDS: **ellagotannins, xanthinoxidase, lipoxygenase, antioxydative activity.**

Отримано 02.01.2003 р.

Адреса для листування: Л.В. Яковлева, ЦНДЛ, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельнікова, 12, Харків, 61002, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИВИРАЗКОВОЇ АКТИВНОСТІ ДІОКСАГЛЮКАМІНУ, ОКСАГЛЮКАМІНУ І ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ НА СТРЕСОВІЙ МОДЕЛІ УРАЖЕННЯ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА

В.В. Пропіснова

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ? ХАРКІВ

Представлено результати доклінічного дослідження противиразкової дії похідних аміноцукру глюкозаміну на моделі експериментальної виразки, яка викликана стресом. Стресову модель у білих щурів-самців викликали методом електростимуляції, яку здійснювали протягом 3 год. Речовини, які вивчали, вводили перорально в дозах ED_{50} і $2ED_{50}$ за противиразковою дією. Оцінювання важкості виразкових уражень проводили за Marazzi-Uberti J. et al. Брали до уваги загальну кількість тварин у групі, кількість щурів з виразками, відсоток тварин з ураженою слизовою оболонкою шлунка, середній бал виразкового ураження, розраховували індекс виразки і коефіцієнт противиразкової активності. Як препарат порівняння використовували "Ранітидин" (КРКА, Словенія) у дозі 40 мг/кг. Отримані результати свідчать про наявність значної противиразкової дії у сполук, які вивчались, в умовах стресу. Можливо, противиразковий ефект здійснюється опосередковано за рахунок включення їх у різні механізми гастропротекції та біохімічні процеси на молекулярному рівні.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аміноцукри, противиразкова дія, стрес, виразкова хвороба.

ВСТУП. Більшість авторів визначає виразкову хворобу з локалізацією процесу в шлунку як хронічне рецидивуюче захворювання, що характеризується тривалим перебігом, чергуванням чітко відмежованих один від одного періодів загострень (часто сезонних, навесні й восени) і ремісіїю, звичайно з типовим вираженням больового синдрому і диспептичних розладів. На сьогодні єдиної думки про причини виникнення даного захворювання немає, однак переважна більшість дослідників одноставна в тому, що виразкова хвороба шлунка має поліетіологічне походження [5, 7].

Як відомо, за нормальних умов у здорових осіб агресивні властивості шлункового вмісту врівноважуються високими захисними можливостями слизової оболонки шлунка, надійно запобігаючи її самопереварюванню. Виразковий дефект виникає лише в тих ситуаціях, коли цей баланс порушується внаслідок посилення дії агресивних факторів, послаблення захисних властивостей слизової оболонки або їхньої комбінації.

До факторів агресії відносять: кислотно-пептичний фактор, розлад моторики травного каналу, гастродуоденальний рефлюкс, тривале персистування *Helicobacter pylori* [1, 14]. Не можна також виключати ролі інших чинників,

© В.В. Пропіснова – к. фарм.н., 2003.

серед яких домінуюче значення має порушення механізмів регуляції рівноваги між факторами захисту й агресії з боку нервової системи. Унаслідок їхнього порушення і перенапруження кортико-вісцеральної та гіпофізарно-надниркової систем виникають різні біохімічні й ендокринні зсуви в організмі, що призводять, у свою чергу, до розладу функцій шлунка (секреторної, моторної), спастичного скорочення, трофічних змін слизової оболонки і, як наслідок, до виразкоутворення. Негативний стресовий вплив на слизову оболонку проявляється порушенням її мікроциркуляції, виділення слизу. Внаслідок цього епітелій слизової стає доступним впливу травних ферментів і утворюються ерозії з наступним некробіозом та некрозом клітин.

У зв'язку з вищевикладеним, при вивченні противиразкової активності похідних аміноцукрів вважалося доцільним досліджувати їхній вплив на одну з ланок патогенезу виразкової хвороби травного каналу – оцінити гастропротекторний ефект при виразковій деструкції, викликаній стресом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження стали аміноцукор глюкозаміну гідрохлорид і його синтетичні похідні діоксаглюкамін і оксаглюкамін (рис. 1).

До проведення експериментів нелінійні білі щури-самці масою 190-220 г знаходилися в стандартних клітках площею 1320 см² (32,5×21,0 см), не більш, ніж по 10 тварин у клітці, при температурі 18-22 °С, стандартному 12-годинному режимі освітлення та вільному доступі до корму і води.

Перед проведенням досліджень з вивчення противиразкової дії сполук на моделі експериментальної виразки тварини попередньо голодували в клітках із ґратчастими підлогами з нержавіючого дроту для запобігання копрофагії при вільному доступі до питної води.

За експериментальну модель було обрано електрострумову виразку, обтяжену іммобілізацією. Модель відтворювали електростимуляцією протягом 3 год з частотою 50 Гц, тривалістю імпульсу 50 м/с і напругою 5-10 В. Її зручність полягає в тому, що вона належить до так званих "гострих", швидковідтворюваних моделей [11].

Речовини вводили перорально за 1 год до і через 3 год після електрострумового впливу в дозі, що дорівнює ED₅₀ і 2ED₅₀ за противиразковою дією. Через 24 год після проведення маніпуляцій тварин умертвляли шляхом хлороформної евтаназії і досліджували шлунок.

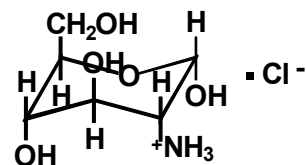
Оцінювання тяжкості виразкових уражень проводили за Marazzi-Uberti J. et al. (1961) [13]. Ступінь виразкового ураження оцінювали за такими ознаками:

- 0 – відсутність ушкоджень;
- 1 – від 1 до 3 невеликих виразок, крововиливів, ерозій (діаметр – менше 4 мм);
- 2 – від 3 до 7 невеликих ушкоджень або 1 ушкодження значних розмірів (діаметр – понад 4 мм);
- 3 – 2 ушкодження значних розмірів або 7 невеликих;
- 4 – понад 7 невеликих ушкоджень;
- 5 – більше 10 великих ушкоджень або проривна виразка.

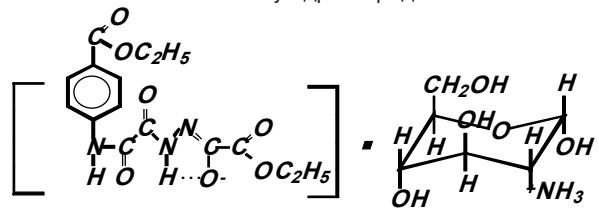
Враховували такі показники: загальна кількість тварин у групі, кількість щурів з виразками, відсоток тварин з ураженою слизовою оболонкою, середній бал виразкового ураження. За отриманими даними розраховували індекс виразки і коефіцієнт противиразкової активності:

$$\text{Індекс виразки} = \frac{\text{середній бал виразкового ураження} \times \text{відсоток тварин з виразками}}{100}$$

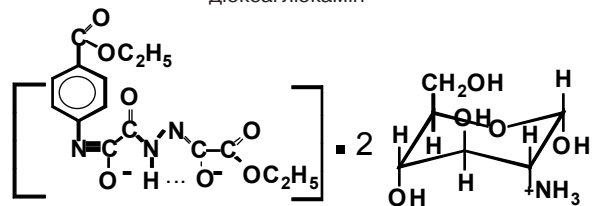
$$\text{Коефіцієнт противиразкової активності} = \frac{\text{індекс виразки в контрольній групі тварин}}{\text{індекс виразки в дослідній групі тварин}}$$



глюкозаміну гідрохлорид



діосаглюкамін



оксаглюкамін

Рис 1. Хімічна структура сполук, які досліджувалися.

Величина відношень індексів, що дорівнює 1, означає відсутність противиразкового ефекту, а її збільшення – позитивний терапевтичний ефект.

Як препарат порівняння використовували "Ранітідин" (KRKA, Словенія) у дозі 40 мг/кг [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При виборі моделі виразкової деструкції слизової оболонки виходили із сучасної концепції про механізм виникнення і розвитку виразкової хвороби шлунка, відповідно до якої немаловажне місце в її етіопатогенезі займає нервово-гуморальна ланка [2, 3, 4, 6].

Вплив даного фактора на процес виразкоутворення відбувається шляхом дії на регуляцію процесів обміну речовин і нормальне функціонування стінки слизової оболонки шлунка через кортико-вісцеральну і надниркову системи. Ульцерогенна дія стресу тісно пов'язана зі змінами в ендокринній системі, обміні біогенних амінів, ішемією кровоносних судин стінки шлунка, у результаті чого відбуваються біохімічні порушення, що призводять до зниження стійкості слизової оболонки до пошкоджувальної дії травних ферментів. Крім того, при зміні нейрорегуляції в слизовій порушуються процеси обміну простагландинів і ресинтезу білка, які тісно з нею пов'язані [9, 10, 12, 15].

У результаті проведених експериментів у контролі було отримано велику групу щурів із множинними виразками, що кровоточили, та ерозіями, у якій на одну тварину в середньому припадала (5,40±0,72 виразки (табл. 1). При

оцінці тяжкості виразкового ураження за J. Marazzi-Uberti її середній бал склав $3,20 \pm 0,21$, а індекс виразки – 2,9 бала (рис. 2). У процесі макроскопічного обстеження відзначалися згладжена складчастість і блідо-рожеве забарвлення поверхні слизової. Ушкодження розташовувалися в основному на вершинах складок залозистої частини слизової шлунка і мали вигляд тонких чорних смужок довжиною до 10 мм.

Комбінований вплив іммобілізації й електроструму викликало у тварин стан підвищеного збудження, що проявлялося агресивністю і злостивістю.

Введення оксаглукаміну не спричиняло достовірної нормалізації досліджуваних показників у жодній з досліджуваних доз (табл. 1, рис. 2). У максимальній дозі (30 мг/кг) індекс виразки, порівняно з контролем, зменшився в 1,3 раза, а коефіцієнт противиразкової активності в цій же дозі склав 1,32. При патоморфологічному дослідженні спостерігалися множинні дрібні ерозії.

У групі тварин, що одержували глюкозаміну гідрохлорид, знижувалась інтенсивність виразкового ураження, що мало дозозалежний характер. Так, у дозі 30 мг/кг ураження слизової оболонки шлунка спостерігалось в 80 % тварин, а в дозі 60 мг/кг їхня кількість зменшувалась до 60 %. Однак, кількість виразок на одну тварину знижувалась незначно і не мала достовірних відмінностей від значень контролю. Середній бал виразкового ураження в середньому по групі тварин, що одержували глюкозаміну гідрохлорид у дозі 30 мг/кг, знижувався на 21,9 %, а при введенні 60 мг/кг препарату даний показник зменшувався в 1,5 раза і склав 2,1 бала ($p < 0,002$). В умовах

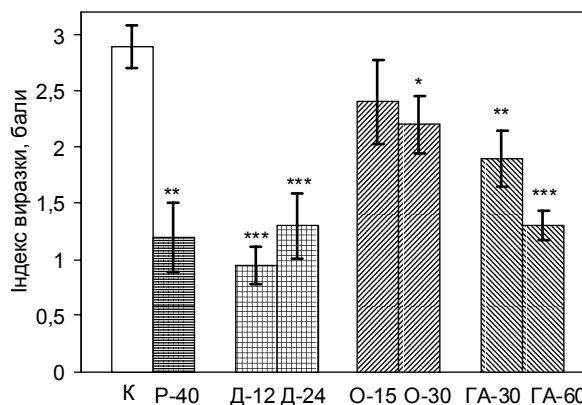


Рис. 2. Противиразкова активність діоксаглукаміну, оксаглукаміну та глюкозаміну гідрохлориду на моделі стресового ураження слизової оболонки шлунка у щурів в умовах перорального введення ($n=80$).

Примітки: 1. К – контроль (виразки). 2. P-40 – контроль+40 мг/кг ранітидину. 3. D-12 і D-24 – контроль+12 і 24 мг/кг діоксаглукаміну. 4. O-15 і O-30 – контроль+15 і 30 мг/кг оксаглукаміну. 5. GA-30 і GA-60 – контроль+30 і 60 мг/кг глюкозаміну гідрохлориду. 6. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, порівняно з контролем.

підвищення дози глюкозаміну гідрохлориду до 60 мг/кг індекс виразки зменшився в 2,2 раза, порівняно з контролем, а коефіцієнт противиразкової активності склав 2,23, порівняно з дозою 30 мг/кг (коефіцієнт противиразкової активності – 1,53).

Застосування діоксаглукаміну значною мірою впливало на стабілізацію стану слизової оболонки шлунка в умовах стресу. Так, при введенні препарату в дозі 12 мг/кг кількість тварин з деструктивними змінами слизової оболонки знижувалась до 50 % у групі. Поверхня шлунка мала блідо-рожеве забарвлення і нормальну складчастість, ушкодження являли собою в основному одиничні точкові дефекти.

Таблиця 1 – Противиразкова активність діоксаглукаміну, оксаглукаміну та глюкозаміну гідрохлориду на моделі стресової виразки у щурів при пероральному введенні

Умови досліджу	n	Доза, мг/кг	Відсоток тварин з виразками	Кількість виразок на одну тварину	Середній бал виразкового ураження	Коефіцієнт противиразкової активності
Контрольні тварини (виразки)	10	–	90	$5,40 \pm 0,72$	$3,20 \pm 0,21$	0
Діоксаглукамін	10	12,0	50	$4,60 \pm 0,72$	$1,90 \pm 0,31$ $p < 0,01$	3,05
	10	24,0	70	$4,80 \pm 0,51$	$1,80 \pm 0,41$ $p < 0,01$	2,23
Оксаглукамін	10	15,0	90	$5,20 \pm 1,13$	$2,70 \pm 0,41$	1,21
	10	30,0	80	$5,10 \pm 0,82$	$2,80 \pm 0,31$	1,32
Глюкозаміну гідрохлорид	10	30,0	80	$5,00 \pm 0,62$	$2,40 \pm 0,31$ $p < 0,05$	1,53
	10	60,0	60	$4,70 \pm 1,03$	$2,10 \pm 0,21$ $p < 0,002$	2,23
Ранітидин	10	40,0	60	$5,30 \pm 0,82$	$2,00 \pm 0,51$ $p < 0,05$	2,42

Примітка. p – достовірність відмінностей відносно контрольної групи тварин.

Кількість їх на одну тварину, порівняно з контролем, змінювалася недостовірно. Ступінь ушкодження стінки, порівняно з контрольними даними, зменшувався в 1,78 раза при введенні дози 24 мг/кг і в 1,68 раза – дози 12 мг/кг. Індекс виразки склав 1,30 і 0,95, а коефіцієнт противиразкової активності – 2,23 і 3,05 відповідно.

Зовні тварини, яких лікували діоксаглюкаміном, відрізнялися більш спокійним характером і активною поведінкою.

Застосування препарату порівняння "Ранітину" сприяло зниженню кількості тварин з виразками до 60 %, кількість виразок на одну тварину практично не відрізнялася від даних контролю, але значення середнього бала виразкового ураження зменшилося в 1,6 раза й у середньому по групі склало $(2,00 \pm 0,51)$ бала ($p < 0,05$). Виразковий індекс дорівнював 1,2, а коефіцієнт противиразкової активності – 2,42, що відповідало ефекту глюкозаміну гідрохлориду в дозі 60 мг/кг.

Таким чином, наведені результати свідчать про наявність значної противиразкової дії у досліджуваних сполук в умовах стресу. За відсутності у фармакодинаміці сполук седативного ефекту, який гальмує реалізацію ульцерогенного впливу стресу, можна припустити, що противиразковий ефект глюкозаміну гідрохлориду в дозі 60,0 мг/кг і, особливо, діокса-

глюкаміну в дозі 12,0 мг/кг здійснюється опосередковано. Можливо, досліджувані речовини включаються в механізми гастропротекції і біохімічні процеси на молекулярному рівні: стимуляція синтезу простагландинів групи E, збільшення вироблення слизу, включення до складу глікопротеїнів шлункового слизу, а також усунення гіпоксії і зниження рівня недоокиснених продуктів переокисного окиснення ліпідів, універсальний механізм їхньої мембрано- і цитопротекторної дії [3, 7, 8].

ВИСНОВКИ. 1. Похідні аміноцукру глюкозаміну проявляють противиразкову дію в умовах стресової експериментальної виразки, викликані комбінацією електростимуляції та іммобілізації.

2. Противиразкова дія похідних аміноцукру глюкозаміну проявляється в зниженні ступеня виразкового ураження (площі дефектів), відсотка тварин з виразковими дефектами, індексу виразки і підвищенні коефіцієнта противиразкової активності.

3. Залежність "доза-ефект" має в оксаглюкаміну і глюкозаміну гідрохлориду прямо, а в діоксаглюкаміну – зворотно пропорційний характер.

4. Найбільш виражену противиразкову дію проявляє синтетична похідна аміноцукру глюкозаміну – діоксаглюкамін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баранская Е.К., Ивашкин В.Г. Гастроэнтерология (справочник). – М.: Русский врач, 1998. – С. 18-29.
2. Василенко В.Х., Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Язвенная болезнь. – М.: Медицина, 1987. – 288 с.
3. Гайворонский И.В., Тихонов Л.П., Кабанов М.Ю. и др. Роль интрамурального нервного аппарата желудка в механизме образования стресс-язв // Росс. журн. гастроэнт., гепатол. и колопроктол. – 1995. – № 3. – С. 57-58.
4. Зупанец И.А. Экспериментальное обоснование использования глюкозамина и его производных в медицине: Дис. ... д-ра мед. наук. – Купавна, 1993. – 90 с.
5. Иванов Л.А. К этиологии язвенной болезни желудка // Росс. журн. гастроэнт., гепатол. и колопроктол. – 1995. – № 3. – С. 100-102.
6. Крикштопайтис М.Й. Актуальные аспекты стрессовых гастродуоденальных язв (вопросы патогенеза, диагностики, лечения и профилактики) // Современные аспекты практической гастроэнтерологии. – Рига: РМИ, 1986. – С. 108-118.
7. Куртяну Б.Н., Шептулин А.А. Язвы желудка (вопросы эпидемиологии, этиологии, патогенеза,

клиники, диагностики, лечения). – Кишинев: Штиинца, 1990. – 248 с.

8. Оболенцева Г.В., Брюзгілова Л.П. Порівняльна експериментальна оцінка деяких противиразкових препаратів // Вісник фармації. – 1995. – № 3-4. – С. 92-94.

9. Плющ С.І. Експериментальне обґрунтування застосування похідних D-(+)-глюкозаміну при термінальних станах: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1995. – 29 с.

10. Червяк П.И., Кейсевич Л.В., Хохоль В.П. Патоморфоз острых экспериментальных язв желудка и двенадцатиперстной кишки // Врач. дело. – 1986. – № 8. – С. 82-86.

11. Яковлева Л.В., Оболенцева Г.В., Брюзгілова Л.П. Експериментальне вивчення нових противиразкових препаратів // В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 321-333.

12. Hase T., Moss B.J. Microvascular changes of gastric mucosa in the development of stress ulcer in rats // Gastroenterology. – 1973. – **65**, № 3. – P. 224-234.

13. Marazzi-Uberti J., Turba C. The experimental gastric ulcer from histamine in guinea pigs // Med. exptl. – 1961. – 7, № 1. – P. 9-14.

14. Marshall B.J. Practical diagnosis of Helicobacter pylori: Helicobacter pylori in peptic ulceration

and gastritis / Eds. B.J. Marshall, R.W. McCallum, R.L. Guerrant // Blackwell Scientific Publications. – Oxford-London-Edinburgh, 1991. – 139 p.

15. Menguy R., Masters J.F. Mechanism of stress ulcer // Gastroenterol. – 1974. – 66, № 4. – P. 991-996.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОЯЗВЕННОЙ АКТИВНОСТИ ДИОКСАГЛЮКАМИНА, ОКСАГЛЮКАМИНА И ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА НА СТРЕССОВОЙ МОДЕЛИ ПОРАЖЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

В.В. Прописнова

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Представлены результаты доклинического исследования противоязвенного действия производных аминасахара глюкозамина на модели экспериментальной язвы, вызванной стрессом. Стрессовую модель у белых крыс-самцов вызывали методом электростимуляции, которую осуществляли в течение 3 часов. Изучаемые вещества вводили перорально в дозах ED_{50} и $2ED_{50}$ по противоязвенному действию. Оценивание тяжести язвенных поражений проводили по Marazzi-Uberti J. et al. Брали во внимание общее количество крыс в группе, число животных с язвами, процент животных с пораженной слизистой оболочкой желудка, средний балл язвенного поражения, рассчитывали индекс язвы и коэффициент противоязвенной активности. В качестве препарата сравнения использовали "Ранитидин" (KRKA, Словения) в дозе 40 мг/кг. Полученные результаты свидетельствуют о наличии значительного противоязвенного действия у изучаемых соединений в условиях стресса. Возможно, наблюдаемый противоязвенный эффект осуществляется опосредовано за счет включения их в разные механизмы гастропротекции и биохимические процессы на молекулярном уровне.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аминасахара, противоязвенное действие, стресс, язвенная болезнь.

RESEARCH OF ANTIULCER ACTIVITY OF DIOXAGLUCAMINE, OXAGLUCAMINE AND GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE ON STRESS MODEL OF STOMACH MUCOUS DEFEAT

V.V. Propisnova

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

Results of preclinical research of antiulcer action of aminosugar glucosamin derivative on experimental ulcer model, caused by stress, are submitted. Stress model at white male rats was caused by electrostimulation method, which was carried out during 3 hours. Substances entered per os in dozes ED_{50} and $2ED_{50}$ by antiulcer action. An estimation of ulcerous defeats severity was carried out by Marazzi-Uberti J. et al. General number of the animals in group, number of the animals with ulcers, percentage of the animals with amazed mucous, average number of ulcerous defeat were taken into account. An ulcer index and coefficient of anti-ulcer activity were calculated. As a preparation of comparison "RANITIDINE" (KRKA, Slovenia) in a doze of 40 mg/kg was used. The received results testify to presence of significant antiulcer action at investigated compounds in conditions of stress. Probably, the observed antiulcerous effect proceeds at the expense of their inclusion in to biochemical processes on molecular level.

KEY WORDS: aminosugars, antiulcer effect, stress, ulcerous illness.

Отримано 24.01.2003 р.

Адреса для листування: В.В. Прописнова, кафедра клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 27, Харків, 61002, Україна.

СПІВВІДНОШЕННЯ ФОСФАТИДИЛЕТАНОЛАМІН/ФОСФАТИДИЛХОЛІН ЯК МАРКЕР ІНДУКОВАНИХ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ МЕТИЛЮВАННЯ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ

І.І. Андрушко

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА

Обстеження 210 практично здорових осіб та 142 пацієнтів з гіпертонічною хворобою (ГХ) виявило значну поширеність порушень обміну гомоцистеїну (ГЦ). Субнормальний рівень ГЦ було зареєстровано у 11 % здорових осіб та 30 % хворих на ГХ, а гіпергомоцистеїнемію – в 10 та 44 % відповідно. Паралельно підвищенню вмісту ГЦ знижувався рівень фосфатидилхоліну (ФХ) і збільшувались концентрація фосфатидилетаноламіну (ФЕА) та величина співвідношення ФЕА/ФХ. Зростання коефіцієнта ФЕА/ФХ адекватно відображає прогресування ГХ, розвиток гіпертрофії лівого шлуночка, погіршення його скоротливої функції. Гальмування метилювання ФЕА визначається також і глибиною недостатності вітамінів B_2 , B_6 та B_{12} , але слабо залежить від рівня ліпідів. Негативний вплив ГЦ на серцево-судинну функцію певною мірою може пояснюватись порушеннями процесів метилювання фосфоліпідів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпертонічна хвороба, гомоцистеїн, фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін, метилювання, статус вітамінів B_2 , B_6 , B_{12} .

ВСТУП. Серед метаболічних факторів ризику серцево-судинних захворювань одне з провідних місць належить гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ). Одним з механізмів несприятливої дії ГГЦ на організм є зниження інтенсивності процесів метилювання (гіпометилювання) [9, 10]. Уже помірне підвищення вмісту ГЦ в плазмі крові пацієнтів з ознаками ураження судин супроводжується зменшенням ступеня метилювання ДНК лімфоцитів [13]. У мишей з генетично зумовленою ГГЦ різко знижується інтенсивність метилювання ДНК та відкладаються ліпіди в аорті [5].

Відомо, що співвідношення S-аденозилметіонін/S-аденозилгомоцистеїн є чутливим індикатором інтенсивності процесів метилювання в клітинах [8], однак їх визначення залишається складною аналітичною проблемою. Як нам здається, інтенсивність процесів метилювання можна було б оцінити за реакцією перетворення фосфатидилетаноламіну (ФЕА) в фосфатидилхолін (ФХ), яка відбувається за участю фосфатидилетаноламін-N-метилтрансферази (КФ 2.1.1.17). Для такої думки є певні підстави, оскільки інтенсивність перетворення ФЕА в ФХ в печінці щурів суттєво знижується при недостатності вітаміну B_6 [11], тобто при

© І.І. Андрушко, 2003.

патологічному стані, який призводить також і до ГГЦ.

Метою дослідження було оцінити, якою мірою співвідношення ФЕА/ФХ репрезентує порушення процесів метилювання в умовах ГГЦ і його зв'язок із станом серцево-судинної системи, рівнем ліпідів та статусом вітамінів у практично здорових осіб та хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Контрольну групу склали 210 практично здорових людей віком від 12 до 60 років. Обстежено 142 хворих на ГХ, в тому числі 119 чоловіків (54,5 %) та 99 жінок (45,4 %), віком від 44 до 78 років (середній вік – $(58,70 \pm 0,77)$ років). Діагноз ГХ верифікували за даними клінічного обстеження, добовим моніторингом артеріального тиску після виключення симптоматичних гіпертоній. За допомогою ультразвукового дослідження визначали розміри серця, товщину стінок, стан клапанного апарату, систолічну та діастолічну функції.

Рівень ГЦ визначали після 12-годинного утримання від їжі методом високоефективної рідинної хроматографії на апараті "Hewlett Packard" (США) після відновлення дисульфідів трибутилфосфіном та наступної їх дерива-

тизації з парахлормеркурибензоатом [1]. Вміст загального холестерину (ХС), холестерину в ліпопротеїнах високої щільності (ЛПВЩ) та тригліцеридів в сироватці крові визначали уніфікованими методами [3].

Забезпеченість рибофлавіном та піридоксином оцінювали за ступенем активації в еритроцитах глутатіонредуктази та аспартат-амінотрансферази при додаванні, відповідно, ФАД (ФАД-ефект) або піридоксальфосфату (ПАЛФ-ефект) [4]. Статус вітаміну В₁₂ визначали за екскрецією з сечею метилмалонової кислоти (ММК), кількість якої оцінювали в реакції діазотування.

Фосфоліпідні фракції сироватки крові визначали методом тонкошарової хроматографії на силікагелі Л5/40 (Chemapol, Чехія), використовуючи систему розчинників "хлороформ-метанол-вода" у співвідношенні 65:30:5 [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами виявлено, що у пацієнтів з ГХ рівень ГЦ на 54 % переважає такий у здорових осіб (табл. 1). Лише 26 % хворих на ГХ мають нормальний вміст ГЦ, а у 30 та 44 % відповідно, реєструється субнормальний рівень ГЦ або ГГЦ. Рівень ГЦ зростає при прогресуванні ГХ і у пацієнтів з III стадією ГХ складає (17,2±0,82), а у хворих з I-II стадіями – (14,10±0,85) мкмоль/л. Порушення обміну ГЦ виявляють і в контрольній групі, але з меншою частотою.

У здорових осіб, але особливо у пацієнтів з ГХ, виявлено зниження рівня ФХ та зростання вмісту ФЕА і співвідношення ФЕА/ФХ у міру підвищення концентрації ГЦ. У пацієнтів з ГХ з

середньою та важкою ГГЦ коефіцієнт ФЕА/ФХ виявився на 39 % вищим, ніж у хворих на ГХ з нормальним рівнем ГЦ.

Дана залежність підтверджується і достовірними коефіцієнтами кореляції. Це свідчить про порушення процесів метилювання ФЕА у хворих на ГХ і велику їх залежність від рівня ГЦ.

Коефіцієнт ФЕА/ФХ виявляє залежність від важкості ГХ і у пацієнтів з III стадією захворювання, співвідношення ФЕА/ФХ достовірно вище, ніж у хворих з I-II стадіями (табл. 2). Приєднання ішемічної хвороби серця (ІХС) чи серцевої недостатності також сприяє зростанню співвідношення ФЕА/ФХ. Цікавим виявився зв'язок процесів метилювання з типом ремоделювання серцевого м'яза. Найменші значення коефіцієнта ФЕА/ФХ зареєстровано у хворих з нормальною геометрією серця, а при концентричному ремоделюванні лівого шлуночка та, особливо, при важких формах його гіпертрофії співвідношення ФЕА/ФХ виявилось достовірно більшим. Так, при концентричній гіпертрофії коефіцієнт ФЕА/ФХ був вищим на 21 %, а при ексцентричній – на 31 %, ніж при нормальній геометрії.

Виявлено чіткий зв'язок між зниженням інтенсивності процесів метилювання та скорочувальної функції міокарда і зростанням маси лівого шлуночка (табл. 3). Тісний зв'язок послаблення процесів метилювання ФЕА з порушеннями скоротливої функції міокарда, гіпертрофією лівого шлуночка не випадковий, адже перетворення ФЕА у ФХ забезпечує адекватний транспорт іонів кальцію в сарко-

Таблиця 1 – Залежність вмісту ФЕА, ФХ в сироватці крові та коефіцієнта ФЕА/ФХ у здорових осіб та пацієнтів з ГХ від рівня ГЦ

Показники	Усі обстежені	Рівень гомоцистеїну				Коефіцієнт кореляції
		Нормальний	Субнормальний	Гіпергомоцистеїнемія		
				Легка	Важка та середня	
Практично здорові особи						
	n=210	n=166	n=23	n=21		
ГЦ, мкмоль/л	10,00±0,22	8,55±0,08	13,20±0,22*	17,50±0,37*	-	-
ФЕА, мг/л	833,0±8,0	818,0±7,8	856±15*	901±26*	-	0,31*
ФХ, мг/л	1466±13	1495±14	1418±30*	1288±26*	-	-0,38*
Коефіцієнт ФЕА/ФХ	0,57±0,01	0,55±0,01	0,610±0,015*	0,70±0,02*	-	0,38*
Хворі на ГХ						
	n=142	n=37	n=42	n=49	n=14	
ГЦ, мкмоль/л	15,40±0,61	8,79±0,43	12,40±0,23*	19,0±0,4*	30,1±2,5*	-
ФЕА, мг/л	897±10	830±13	901±21*	910±15*	935±30*	0,29*
ФХ, мг/л	1303±18	1362±27	1384±33	1282±29	1103±30*	-0,38*
Коефіцієнт ФЕА/ФХ	0,70±0,01	0,61±0,01	0,660±0,016*	0,73±0,02*	0,85±0,02*	0,43*

Примітка. * – достовірні відмінності щодо осіб з нормальним рівнем ГЦ та достовірні коефіцієнти кореляції

Таблиця 2 – Залежність процесів метилювання ФЕА від важкості ГХ та наявності ускладнень

Групи обстежених	ГЦ, мкмоль/л	ФЕА, мг/л	ФХ, мг/л	Коефіцієнт ФЕА/ФХ
Здорові особи, n=210	10,00±0,22	833,0±8,0	1466±13	0,570±0,007
Усі хворі на ГХ, n=142	15,40±0,61*	897±10*	1303±18*	0,700±0,011*
Залежно від стадії ГХ				
ГХ I-II стадій, n=83	14,10±0,85	889±14	1364±23	0,660±0,012
ГХ III стадії, n=59	17,20±0,82*	909±14	1216±26*	0,760±0,017*
Залежно від супровідної патології				
ГХ без ІХС, n= 64	13,20±0,66	869±18	1383±31	0,68±0,016
ГХ в поєднанні з ІХС, n=78	17,20±0,93*	913±14	1286±26	0,73±0,014*
Залежно від наявності серцевої недостатності				
СН 0-1, n=85	13,90±0,80	869±13	1354±24	0,660±0,014
СН 2, n=57	17,50±0,89*	911±17*	1245±27*	0,720±0,017*
Залежно від типу ремоделювання серцевого м'яза				
Нормальна геометрія м'яза, n=20	12,10±1,32	850±27	1403±46	0,610±0,023
Концентричне ремоделювання, n=14	14,90±0,61	900±24	1302±38	0,70±0,02*
Концентрична гіпертрофія, n=50	17,80±0,94*	926±16*	1283±29*	0,74±0,02*
Ексцентрична гіпертрофія, n=16	18,70±1,43*	963±39*	1222±62*	0,80±0,03*

Примітка. * – достовірні відмінності щодо попередньої групи, або групи з нормальною геометрією міокарда.

плазматичний ретикулум міокарда [12] і є важливим елементом системи бета-адренергічної регуляції функції міокарда [7].

Відомо, що рівень ГЦ значною мірою контролюється статусом вітамінів В₆, В₂, В₁₂ та В₉ [9, 10]. Тому, якщо метилювання ФЕА пов'язане з рівнем ГЦ, то і забезпеченість цими вітамінами повинна впливати на коефіцієнт ФЕА/ФХ. Встановлено, що у хворих на ГХ реєструється недостатність вищезазначених вітамінів. Якщо в контрольній групі величина ФАД- і ПАЛФ-ефектів та екскреція ММК складають, відповідно, (14,80±0,22) %, (66,50±0,78) % та (18,40±0,30) мг/г креатиніну, то у хворих на ГХ – (16,90±0,35) %, (76,30±1,12) % та (21,00±0,37) мг/г (p<0,05).

Недостатність піридоксину, рибофлавіну та вітаміну В₁₂ у пацієнтів з ГХ є фактором, що сприяє зростанню співвідношення ФЕА/ФХ

(табл. 3). Про це свідчить як паралелізм змін ПАЛФ, ФАД-ефекту, екскреції ММК і коефіцієнта ФЕА/ФХ, так і наявність достовірного кореляційного зв'язку між цими показниками. Разом із тим, зв'язки ліпідів з коефіцієнтом ФЕА/ФХ виявились менш тісними. Лише рівень холестерину в ЛПВЩ виявив помірний зв'язок зі співвідношенням ФЕА/ФХ. З цього приводу можна зауважити, що ФХ (продукт метилювання ФЕА) є основним компонентом сироваткових ЛПВЩ, який забезпечує здатність цих білків акцептувати клітинний холестерин [6].

Факторний аналіз показав (табл. 4), що найбільше на співвідношення ФЕА/ФХ впливають концентрація ГЦ та забезпеченість вищезазначеними вітамінами. Меншою мірою на коефіцієнт ФЕА/ФХ діє рівень холестерину в ЛПВЩ, а інші досліджені нами чинники мали незначний вплив.

Таблиця 3 – Зв'язок між величиною коефіцієнта ФЕА/ФХ та функцією серцево-судинної системи, статусом вітамінів В₆, В₂, та В₁₂ і рівнем ліпідів у пацієнтів з ГХ

Показники	Коефіцієнт ФЕА/ФХ			Кореляція
	0,55±0,01 Низький, n=49	0,670±0,007 Проміжний, n=50	0,860±0,011 Високий, n=43	
Індекс маси лівого шлуночка	137,0±6,1	160,0±6,5*	223±14*	0,38*
Фракція викиду, %	67,7±1,5	64,1±1,6	52,1±1,9*	-0,42*
ПАЛФ-ефект, %	70,10±1,58	75,00±1,52*	85,60±1,94*	0,42*
ФАД-ефект, %	15,10±0,40	16,60±0,56	19,40±0,67*	0,34*
ММК, мг/г креатиніну	19,0±0,46	20,7±0,65*	23,7±0,57*	0,40*
Загальний холестерин, ммоль/л	5,79±0,17	6,02±0,19	6,21±0,20	0,12
Холестерин ЛПВЩ, ммоль/л	1,34±0,05	1,35±0,06	1,09±0,05*	-0,29*
Холестерин ЛПНЩ, ммоль/л	3,67±0,15	3,73±0,16	4,03±0,17	0,14
Тригліцериди, ммоль/л	1,73±0,12	2,09±0,23	2,41±0,15*	0,23

Примітка. * – достовірні, порівняно з першою групою, відмінності.

Таблиця 4 – Факторний аналіз залежності коефіцієнта ФЕА/ФХ від впливу деяких чинників

Чинник, що впливає на коефіцієнт ФЕА/ФХ	Показник сили впливу та його похибка, %	Чинник, що впливає на коефіцієнт ФЕА/ФХ	Показник сили впливу та його похибка, %
Гомоцистеїн	33,2±2,0	ПАЛФ-ефект	29,3±4,8
Загальний холестерин	7,3±4,8	ФАД-ефект	22,2±5,3
Холестерин в ЛПВЩ	15,2±4,6	ММК	24,0±3,4
Холестерин в ЛПНЩ	9,2±4,7	Вік пацієнтів	6,6±3,5
Тригліцериди	10,4±1,9	Індекс маси тіла	12,400±0,053

Отже, співвідношення ФЕА/ФХ адекватно відображає індуковане ГГЦ порушення процесів метилювання в організмі хворих із серцево-судинною патологією. Величина ФЕА/ФХ зростає паралельно до підвищення концентрації ГЦ і адекватно відображає прогресування ГХ, розвиток гіпертрофії лівого шлуночка та погіршення його скоротливої функції. Ступінь метилювання ФЕА визначається також і глибиною дефіциту вітамінів В₆, В₂ та В₁₂, однак слабо залежить від вмісту ліпідів, виявляючи помірний зворотний зв'язок з рівнем холестерину в ЛПВЩ. Очевидно, негативний вплив ГГЦ на серцево-судинну функцію певною мірою може пояснюватись порушеннями процесів метилювання фосфоліпідів.

ВИСНОВКИ. 1. Перебіг гіпертонічної хвороби супроводжується адекватним її важкості зниженням процесів метилювання ФЕА. Існує зв'язок між підвищенням коефіцієнта ФЕА/ФХ та зниженням скорочувальної функції і зростанням маси лівого шлуночка.

2. Рівень ГЦ тісно пов'язаний з процесами метилювання фосфоліпідів, у міру підвищення концентрації ГЦ реєструється закономірне зниження концентрації ФХ та зростання вмісту ФЕА і співвідношення ФЕА/ФХ.

3. Недостатність піридоксину, рибофлавіну та вітаміну В₁₂ у хворих на ГХ, а не ліпідні фактори ризику, значною мірою визначає глибину порушення процесів метилювання фосфоліпідів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – С. 126-135.
2. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
3. Методы оценки и контроля витаминной обеспеченности населения / Под ред. В.Б. Спиричева. – М.: Наука, 1984. – 170 с.
4. Снегирева Л.В., Арешкина Л.Я. Метод определения метилмалоновой кислоты // Приклад. биохим. и микробиол. – 1972. – **8**, № 3. – С. 363-366.
5. Chen Z., Karaplis A.C., Ackerman S.L. et al. Mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase exhibit hyperhomocysteinemia and decreased methylation capacity, with neuropathology and aortic lipid deposition // Hum. Mol. Genet. – 2001. – **10**, № 5. – P. 433-443.
6. Fournier N., Paul J.L., Atger V. et al. HDL phospholipid content and composition as a major factor determining cholesterol efflux capacity from Fu5AH cells to human serum // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 1997. – **17**, № 11. – P. 2685-2691.
7. Limas C.J. Effect of phospholipid methylation on beta-adrenergic receptors in the normal and hypertrophied rat myocardium // Circ. Res. – 1980. – **47**,

- № 4. – P. 536-541.
8. Loehrer F.M., Tschopl M., Angst C.P. et al. Disturbed ratio of erythrocyte and plasma S-adenosylmethionine/S-adenosylhomocysteine in peripheral arterial occlusive disease // Atherosclerosis. – 2001. – **154**, № 1. – P. 147-154.
9. Medina M., Urdiales J.L., Amores-Sanchez M.I. Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions // Eur. J. Biochem. – 2001. – **268**, № 14. – P. 3871-3882.
10. Selhub J. Homocysteine metabolism // Annu. Rev. Nutr. – 1999. – № 19. – P. 217-246.
11. She Q.B., Hayakawa T., Tsuge H. Alteration in the phosphatidylcholine biosynthesis of rat liver microsomes caused by vitamin B₆ deficiency // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 1995. – **59**, № 2. – P. 163-167.
12. Tappia P.S., Okumura K., Kawabata K. et al. Ca²⁺-antagonists inhibit the N-methyltransferase-dependent synthesis of phosphatidylcholine in the heart // Mol. Cell. Biochem. – 2001. – **221**, № 1-2. – P. 89-98.
13. Yi P., Melnyk S., Pogribna M. et al. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, № 38. – P. 29318-29323.

СООТНОШЕНИЕ ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛАМИН/ФОСФАТИДИЛХОЛИН КАК МАРКЕР ИНДУЦИРОВАННЫХ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

И.И. Андрушко

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И. ПИРОГОВА

Резюме

Обследование 210 практически здоровых людей и 142 пациентов с гипертонической болезнью (ГБ) обнаружило существенную распространенность нарушений обмена гомоцистеина (ГЦ). Субнормальный уровень ГЦ был зарегистрирован у 11 % здоровых людей и 30 % больных ГБ, а гипергомоцистеинемию – у 10 и 44 % соответственно. Параллельно с повышением содержания ГЦ снижался уровень фосфатидилхолина (ФХ) и увеличивались концентрация фосфатидилэтанолamina (ФЭА) и величина соотношения ФЭА/ФХ. Возрастание коэффициента ФЭА/ФХ адекватно отражает прогрессирование ГБ, развитие гипертрофии левого желудочка, ухудшение его сократительной функции. Угнетение метилирования ФЭА определяется также и глубиной недостаточности витаминов В₂, В₆, В₁₂, но слабо зависит от уровня липидов. Отрицательное влияние ГЦ на сердечно-сосудистую функцию, возможно, объясняется нарушениями процессов метилирования фосфолипидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипертоническая болезнь, гомоцистеин, фосфатидилэтанолamin, фосфатидилхолин, метилирование, статус витаминов В₂, В₆, В₁₂.

THE PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE AND PHOSPHATIDYLCHOLINE RATIO AS THE MARKER OF HYPERHOMOCYSTEINEMIA-INDUCED DISORDERS OF METHYLATION PROCESSES IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION

I.I. Andrushko

VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY M.I. PYROHOV

Summary

The examination of 210 practically healthy persons and 142 patients with essential hypertension (EH) revealed the great prevalence of homocysteine metabolism disorders. The subnormal HC rate was registered in 11 % of healthy people and 30 % of patients with EH, and hyperhomocysteinemia was registered in 10 and 44 %, relatively. The level of phosphatidylcholine (PC) has been decreasing and the concentration of phosphatidylethanolamine (PEA) as well as the value of PEA/PC ratio have been increasing parallel with the increasing of HC content. The increasing of PEA/PC ratio adequately reflects the progress of EH, the development of left ventricle hypertrophy, the worsening of its contractile function. The oppression of PEA is determined by B6, B2 and B12 vitamins insufficiency too, but it is less dependent on the lipid level. The negative influence of HC to cardiovascular function may be explained by the disorders of phospholipid methylation processes.

KEY WORDS: essential hypertension, homocysteine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, methylation, vitamins В₂, В₆, В₁₂ status.

Отримано 26.12s.2002 р.

Адреса для листування: І.І. Андрушко, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТУ “ОРИНОЛТМПЛЮС” (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДАНІ)

М.А. Мохорт, Л.М. Киричок, Н.М. Серединська
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

У досліджах на різних видах лабораторних тварин підтверджено доцільність створення та використання комбінованого лікарського препарату “ОРИНОЛТМПЛЮС”. Він чинить протинабрякову, мембрано-стабілізувальну, антиалергійну дію, зумовлені вазоконстрикторною та антигістамінною активністю його інгредієнтів: фенілефрину дигідрохлориду, фенілолоксаміну цитрату і хлорфеніраміну малеату.

“ОРИНОЛТМПЛЮС” – малотоксичний препарат, не має органотропності і проявів статевої чутливості.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: комбінований препарат “ОРИНОЛТМПЛЮС”, експеримент, вазоконстрикторна та антигістамінна активність.

ВСТУП. Запалення належить до найбільш розповсюджених захворювань, оскільки воно на тому чи іншому етапі супроводжує практично всі хвороби. Механізми розвитку запалення надзвичайно різноманітні, у зв'язку з чим ефективна фармакологічна корекція повинна ґрунтуватися на активності препаратів з такими ж політропними спектрами дії [2, 3, 8, 9, 11]. Пошук нових протизапальних препаратів серед нових класів хімічних сполук і впровадження їх у медичну практику в даний час дуже обмежені, тому оптимальною для лікування запалення вбачається можливість створення високоефективних комбінованих препаратів, які б забезпечували терапевтичний ефект за рахунок одночасного впливу на різні ланки запального процесу. Цілеспрямований підбір інгредієнтів і раціональне обґрунтування їх доз дозволяють знизити токсичність комбінованих препаратів шляхом зменшення використаних доз, підвищуючи при цьому специфічну активність за рахунок сумування, а іноді й потенціювання, їх ефектів.

Одним із комбінованих препаратів з науково обґрунтованим підходом до вибору активних інгредієнтів та їх доз є “ОРИНОЛТМПЛЮС”, створений фахівцями фірми “SAGMEL, Inc” (США). Вказана фірма оснащена найсучаснішим комп'ютерним аналітичним обладнанням, є структурним підрозділом однієї з найпотужніших американських фармацевтичних корпорацій “Perrigo Co”, яка існує з 1881 р., і під

торговою маркою “HEALTH LIFE” (“Здорове життя”) випускає продукцію найвищої якості. Препарат запропонований у вигляді капсул, які містять 4 мг хлорфеніраміну малеату, 20 мг фенілефрину гідрохлориду та 50 мг фенілолоксаміну цитрату.

Метою даної роботи було експериментальне підтвердження раціональності використання комбінованого препарату “ОРИНОЛТМПЛЮС” для фармакологічної корекції запальних захворювань різної етіології.

Вибір тестів для оцінки специфічної активності препарату “ОРИНОЛТМПЛЮС” ґрунтувався на фармакологічних властивостях його окремих інгредієнтів. Основними (в масовому еквіваленті) його активними компонентами є фенілолоксаміну цитрат і хлорфеніраміну малеат, які належать до класу антигістамінних препаратів і пригнічують опосередковані гістаміном симптоми алергічного риніту, пом'якшуючи чихання, ринорею і свербіння в очах, носі й горлі [4, 5, 7]. Спектр фармакологічної дії препарату “ОРИНОЛТМПЛЮС” суттєво розширюється за рахунок фенілефрину гідрохлориду – агоніста альфа-адренергічних рецепторів (симпатоміметика), який має судинозвужувальну активність завдяки стимуляції альфа-рецепторів в слизових оболонках дихальних шляхів. З клінічної точки зору фенілефрин зменшує набряк слизових оболонок і гіперемію тканин, пом'якшує набрякові й застійні явища в ділянці носа, а також покращує прохідність дихальних шляхів.

У зв'язку з вищесказаним, фармакологічну активність препарату “ОРИНОЛТМПЛЮС” оці-

© М.А. Мохорт – д.мед.н., проф., Л.М. Киричок – к.біол.н., Н.М. Серединська – к.мед.н., 2003.

новали за здатністю чинити протинабрякову (антигістамінну), мембраностабілізуючу, антиалергійну, антиринорейну та протисвербіжну дії [3, 10-12].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Протинабрякову активність препарату вивчено під час дослідів на статевозрілих білих щурах масою 150-160 г, які утримувалися на стандартних харчовому і кліматичному режимах віварію. Піддослідних тварин поділили на дві групи, одна з яких була контрольною, а друга – дослідною. Після триразового вимірювання плетизмометричним методом об'єму стопи правої задньої кінцівки щурам 1-ї групи внутрішньо через металевий зонд вводили завись в 1 % крохмальному клейстері вмісту капсули в сумарній дозі активних інгредієнтів 5 мг/кг (об'єм – 5 мл/кг), а тваринам 2-ї групи – адекватну кількість крохмального клейстеру. Через 30 хв тваринам обох груп під апоневроз стопи туберкуліновим шприцом вводили 0,1 мл 1 % розчину гістаміну гідрохлориду. Протинабрякову активність оцінювали в динаміці через 1, 2, 3, 24 год після введення гістаміну за здатністю попереджувати розвиток викликаного вказаним прозапальним агентом набряку.

Резистентність капілярів шкіри досліджували за методом [8] на молодих білих щурах лінії Вістар масою 130-140 г. Піддослідних тварин поділяли на три групи. Щури 1-ї групи залишалися інтактними відносно патогенного агента, а тваринам 2-ї і 3-ї груп вводили внутрішньошкірно 50 мкл 0,5 % водного розчину гістаміну гідрохлориду. Слід зазначити, що даний розчин вводили на попередньо підготовлені (ретельно виголені, без ознак механічного пошкодження) ділянки спинно-бокової поверхні тіла безпосередньо за грудною кліткою. Місце ін'єкції маркували. Щури 2-ї групи були негативним контролем, а тварин 3-ї групи за 30 хв до ін'єкції розчину гістаміну гідрохлориду лікували препаратом "ОРИНОЛтмПЛЮС" (5 мг/кг у перерахунку на сумарну кількість активних інгредієнтів).

Через 30 хв після введення гістаміну гідрохлориду тваринам усіх трьох груп внутрішньовенно вводили 2 % розчин синього Еванса (5 мл/кг), через 10 хв дієтиловим ефіром проводили евтаназію щурів. Металевим дироколом висікали ділянки шкіри діаметром 10 мм з центром на місці ін'єкції гістаміну гідрохлориду. Ножицями ретельно подрібнювали висічені шматочки шкіри, поміщали їх у скляні бюкси з притертими пробками, заливали 5 мл диметилформаміду для екстракції барвника. Для кращого екстрагування бюкси ставили в термостат при температурі 42 °С на 72 год.

Спектрофотометрування проводили на СФ-26 при 620-640 нМ і за калібрувальним графіком розраховували кількість барвника в пробах (мкг/мл).

Антиалергійну офтальморекцію оцінювали за наявністю, характером та ступенем вираження токсичних проявів як місцевої, так і загальнорезорбтивної дії гістаміну на організм. Ці дослідження виконано на кроликах породи Шиншила масою 2000-2500 г. Тварин поділили на дві групи, одна з яких була контрольною, а друга – дослідною. У щурів обох груп шляхом введення в кон'юнктивальний мішок 2 крапель 2 % розчину гістаміну дигідрохлориду викликали специфічну офтальморекцію. Тваринам 2-ї групи досліджуваній препарат вводили всередину в дозі 5 мг/кг за 30 хв до інстиляції гістаміну.

Оцінювали офтальморекцію за допомогою офтальмоскопу ручного ОР-3А через 10 хв, 1 і 3 год після одноразової інстиляції розчину гістаміну гідрохлориду.

Антиринорейну та протисвербіжну дії препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС" встановлено під час дослідів на білих мишах в умовах інстиляції їм в носові ходи 1 краплі 0,005 % розчину морфоліду пеларгонової кислоти. Даний розчин, сприяючи розпаду опасистих клітин і вивільненню з них біогенних амінів, особливо гістаміну, викликає в тварин інтенсивне подразнення слизової верхніх дихальних шляхів, яке супроводжується рясною лакримацією, ринореєю і пекучим свербежем у зоні нанесення іританту. Досліджуваній препарат вводили всередину в дозі 5 мг/кг за 30 хв до подразнення слизової.

Дослідження специфічної активності в даному випадку проводили в динаміці через 5, 10, 30 та 60 хв після аплікації морфоліду пеларгонової кислоти. Критерієм оцінки була інтенсивність подразнення та ринореї, яка вимірювалася, відповідно, кількістю почісувань зони подразнення передніми лапками і масою рідини, що виділялася з носових ходів.

Визначення середньолетальної дози препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС" здійснено на білих щурах. Його вводили у вигляді зависі в 1 % крохмальному клейстері всередину в дозах 150-500 мг/кг одноразово натще. Вказані дози розраховували за масою активних інгредієнтів вмісту гранул капсули. Середньолетальні дози визначали методом найменших квадратів [1]. Основним критерієм токсичного ефекту досліджуваного препарату була загибель тварин, але в ході експерименту проводили візуальне спостереження за загальним станом щурів, їх руховою активністю, деякими поведінковими реакціями, здатністю споживати корм та воду. Здійснювали також регулярне вимірювання

маси і температури тіла, оцінювали реакцію піддослідних тварин на зовнішні (звукові, світлові, механічні, вібраційні тощо) подразники. У кінці досліду шляхом передозування диетилового ефіру проводили евтаназію щурів, макроскопічний огляд внутрішніх органів і визначали їх масові коефіцієнти.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено (табл. 1), що субплантарне введення гістаміну дигідрохлориду тваринам контрольної групи супроводжується суттєвим зростанням рівня проникності судин, спричиняючи значне збільшення об'єму стопи кінцівки. Максимальний розвиток набряку відзначається через 2 год після введення флогогенного агента. У наступні терміни спостереження відбувається поступове зниження рівня проникності, але і на 24 год об'єм кінцівки все ще залишається дещо збільшеним.

Протинабрякова (антигістамінна) дія комбінованого препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС" проявляється вже через 1 год після введення медіатора запалення і зберігається на статистично достовірному рівні протягом усього періоду спостереження.

Мембраностабілізуючий ефект препарату (табл. 2) оцінювали за станом резистентності капілярів. Відомо, що судини шкіри надзвичайно чутливі до різних ендогенних та екзогенних подразників. У відповідь на сильний подразник спостерігаються гіперемія шкіри та підвищення рівня судинної проникності, що супроводжуються розвитком набряків і

відчуттям розпираючого болю. У результаті слабкого, але тривалого подразнення шкіри згадані явища можуть і не виникати, але резистентність капілярів шкіри при цьому все ж суттєво знижується.

Об'єктивним підтвердженням антиалергійної дії комбінованого препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС" є і показники його впливу на гістамінову офтальморекцію (табл. 3): показано, що він чинить виразну антигістамінну дію, зменшуючи або ж повністю попереджуючи розвиток специфічної офтальморекції у кроликів.

Використаний при вивченні антиринорейної та протисвербіжної дій препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС" морфолід пеларгонової кислоти, сприяючи розпаду опасистих клітин і вивільненню з них біогенних амінів, зокрема гістаміну, викликає у тварин інтенсивне подразнення слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, яке супроводжується рясною лакримацією, ринореєю і пекучим свербежем у зоні нанесення іританту.

Згідно з отриманими (табл. 4) даними, однократна інстиляція морфоліду пеларгонової кислоти в носові ходи викликає сильну подразнювальну дію, яка супроводжується свербежем, інтенсивним почісуванням і рясною ринореєю. Вказана реакція поступово згасає, продовжуючись усе ще на досить високому рівні протягом 30 хв.

Застосування на тлі вказаного подразника комбінованого препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС", який містить у своєму складі антигістамінні та вазоконстрикторні компоненти, суттєво змен-

Таблиця 1 – Протинабрякова (антигістамінна) дія препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС"

Умови досліду	Статистичні показники	Об'єм стопи, ум. од.				
		Вихідні дані	1 год	2 год	3 год	24 год
Контроль	n	15	15	15	15	15
	M±m	2,20±0,11	4,90±0,21	6,75±0,35	6,40±0,15	3,00±0,29
	p		<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
ОРИНОЛтмПЛЮС	n	7	7	7	7	7
	M±m	2,15±0,20	3,42±0,20	4,45±0,27	4,22±0,27	2,48±0,32
	p		<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₁	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05

Примітка. p – рівень достовірності розбіжностей порівняно з вихідними показниками даної групи;
p₁ – рівень достовірності розбіжностей відносно даних аналогічного терміну спостереження тварин контрольної групи.

Таблиця 2 – 3 міни резистентності капілярів шкіри білих щурів до гістаміну гідрохлориду при введенні препарату "ОРИНОЛтмПЛЮС"

Статистичні показники	Концентрація фарбника (мкг/мл)		
	Контроль		Лікування «ОриноломтмПлюс»
	Інтактні тварини	Негативний контроль (гістамін)	
M±m	11,2±0,22	24,0±0,77	14,1±0,50
p		<0,05	<0,05
p ₁			<0,05

Примітка. p – рівень достовірності відмінностей відносно контролю (інтактні тварини);
p₁ – рівень достовірності відмінностей стосовно тварин негативного контролю.

Таблиця 3 – Вплив препарату “ОРИНОЛтмПЛЮС” на гістамінову офтальморекцію у кроликів

Симптоми, які оцінювалися	Групи тварин					
	Контроль			«ОРИНОЛтмПЛЮС»		
	Час спостереження, хв			Час спостереження, хв		
	10	60	180	10	60	180
Птоз	6/6*	2/6	2/6	0/6	0/6	0/6
Гіперемія кон'юнктиви і склери	6/6	6/6	6/6	4/6	1/6	0/6
Набряк слизової	4/6	4/6	3/6	1/6	1/6	0/6
Лакримация	6/6	6/6	2/6	2/6	1/6	2/6

Примітка. Відношення кількості тварин з позитивною відповіддю до загальної кількості кроликів у групі.

Таблиця 4 – Протисвербіжна та антиринорейна дії препарату “ОРИНОЛтмПЛЮС”

Група тварин	Досліджувані показники	Статистичні показники	Час спостереження, хв			
			5	10	30	60
Контроль: внутрішньоназальна аплікація морфоліду пеларгової кислоти	Почісування*	$M \pm m$	25,90±0,92	12,40±0,80	9,00±0,41	3,3±0,7
	Ринорея**	$M \pm m$	17,50±0,78	12,10±0,50	11,30±0,67	9,00±0,45
Лікування: Препарат "ОринолтмПлюс"	Почісування	$M \pm m$	10,00±0,44	3,70±0,56	1,80±0,41	0,90±0,33
		p	<0,05	<0,050	<0,05	<0,05
	Ринорея	$M \pm m$	7,50±0,67	3,20±0,67	2,20±0,33	1,80±0,22
		p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Примітка. * – кількість почісувань за 3 хв перед вказаним терміном спостереження;

** – маса (мг) виділень із носових ходів тварин за аналогічний період;

p – рівень достовірності відмінностей відносно нелікованих тварин в той же період спостереження.

шує як симптоми подразнення, так і явища алергічного риніту.

Таким чином, згідно з даними, отриманими в ході досліджень на великій кількості лабораторних тварин різних біологічних видів, препарат має здатність пригнічувати опосередковані гістаміном симптоми алергічного риніту, знижувати інтенсивність ринореї та свербіж у очях і носі, чинить виразну протигістамінну (проти набряку) дію, зменшує інтенсивність офтальморекції (набрякання і гіперемію слизових) у відповідь на вплив гістаміну, підвищує резистентність клітинних мембран до дії екзогенних медіаторів запалення.

Одним із найбільш інтегральних показників фізіологічної активності ксенобіотиків, в тому числі і лікарських препаратів, є їх нешкідливість, яка характеризується в основному ступенем гострої токсичності. Важливими проявами негативної дії лікарських засобів на організм є також їх можливі статеві чутливості та органотропність.

Отримані результати вивчення нешкідливості препарату узагальнено і представлено в таблицях 5-6.

Згідно з отриманими даними, однократне введення в шлунок препарату “ОРИНОЛтмПЛЮС” у вигляді капсул у дозах до 158 мг/кг не спричиняє загибелі піддослідних тварин. Щури вказаних груп нормально набирали масу тіла, активно поглинали корм та воду, мали охайний зовнішній вигляд; через 24 год після введення препарату повністю відновлювалась реакція на

зовнішні подразники, температура їх тіла, зоосоціальні взаємовідносини і поведінкові реакції не мали суттєвих відмінностей від норми. Симптомами отруєння тварин слід вважати лише на короточасне зростання частоти дихання та періодичне підвищення рухової активності тварин (перші 6 год), зниження реакції на зовнішні подразники (до 4 год), збільшення споживання води (до 48 год), незначний ціаноз вушних раковин та пальців усіх кінцівок.

При збільшенні доз препарату зростала інтенсивність вказаних симптомів, підвищувався тонус скелетної мускулатури, розвивався феномен Штраубе, поглиблювалися симптоми порушення дихання (тахіпноє, поверхневе дихання, ціаноз), поступово підвищений тонус м'язів переростав у тонічні судоми. Тварини гинули, як правило, протягом 72 год після введення препарату. Його середньолетальні дози для самців та самок білих щурів практично рівнозначні і становлять 258-274 мг/кг. При цьому не виявлено якихось видимих змін у внутрішніх органах, вони зберігали звичні колір та розташування, легені мали свою специфічну будову, кишечник не роздутий, рівномірно заповнений, розміри і масові коефіцієнти внутрішніх органів без змін. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що препарат не властиві симптоми статевої чутливості та органотропності.

ВИСНОВКИ. Широкий спектр фармакологічної активності комбінованого препарату

Таблиця 5 – Показники гострої токсичності препарату “ОРИНОЛтмПЛЮС” для білих щурів при введенні в шлунок

Умови досліджу	Стать тварин	Доза, мг/кг	Маса тварин, г		Отриманий ефект*	Середньо-летальна доза, мг/кг
			початкова	кінцева		
			M±m	M±m		
"ОринолтмПлюс"	Самці	126	165	178	0/2	258 (210-320)
		158	159	170	0/2	
		200	165	180	0/2	
		250	155	-	2/2	
		316	150	171	1/2	
		398	158	-	2/2	
		500	168	-	2/2	
"ОринолтмПлюс"	Самки	126	152	168	0/2	274 (200-380)
		158	145	161	0/2	
		200	148	164	1/2	
		250	152	-	0/2	
		316	150	160	1/2	
		398	153	-	2/2	
		500	147	-	2/2	

Примітка. * – відношення кількості загиблих тварин до їх загальної кількості в групі.

Таблиця 6 – Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів при введенні сублетальних доз препарату “ОРИНОЛтмПЛЮС”

Умови досліджу	Стать тварин	Статистичні показники	Печінка	Нирки	Серце	Надниркові залози	Легені	Яєчки
Інтактні щури	Самці (n=15)	M±m	40,85±1,58	7,75±0,56	3,95±0,26	0,19±0,02	7,73±0,45	9,39±0,79
	Самки (n=20)	M±m	40,95±1,61	7,69±0,27	4,05±0,37	0,20±0,02	7,85±0,80	
«Оринол тмПлюс»	Самці (n=6)	M±m	37,2±2,12	7,22±0,34	4,12±0,21	0,15±0,01	8,00±0,42	9,30±0,52
		p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
		p ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	Самки (n=6)	M±m	40,5±1,67	7,22±0,47	4,18±0,32	0,18±0,02	8,75±0,56	
		p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
		p ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,02	>0,05	

Примітка. p – рівень достовірності змін відносно інтактних тварин;

p₁ – ступінь достовірності відмінності даних між тваринами протилежної статі.

“ОРИНОЛтмПЛЮС” базується на науково обгрунтованому поєднанні інгредієнтів з різними механізмами дії та зростанні їх сумарної активності, зокрема:

– висока протинабрякова активність та збільшення резистентності клітинних мембран до дії екзогенних медіаторів запалення забезпечуються в основному судинозвужувальною активністю агоніста альфа-адренергічних рецепторів фенілефрину гідрохлориду (симпатоміметика);

– здатність пригнічувати симптоми алергічного риніту, знижувати інтенсивність ринореї та свербіж в очах і носі, зменшувати інтенсивність або ж повністю попереджувати офтальмореакцію зумовлена дією антигістамінних препаратів: фенілтолоксаміну цитрату і хлорфеніраміну малеату;

– препарат “ОРИНОЛтмПЛЮС” належить до класу малотоксичних речовин, не має симптомів органотропності та ознак статевої чутливості.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Медгиз, Ленинградское отд., 1963. – 215 с.

2. Дзяк Г.В. Нестероидные противовоспалительные средства: новые представления о механизме действия и новые возможности // Лікування та діагностика. – 1997. – № 3. – С. 12-16.

3. Ершов Ю.А., Плетнева Т.В., Воробьева Т.В. и др. Прогнозирование биологической активности комбинации веществ по токсикометрическим характеристикам тест-моделей // 5-й Рос. нац. конг. “Человек и лекарство”. – М., 1998. – 565 с.

4. Chua S.S., Benrinoj S.I., Gordon R.D. et al. Cardiovascular effects of a chlorphenipamine/para-

cetamol combination in hypertensive patients who were sensitive to the pressor effect of pseudoephedrine // Br. J. Clin. Pharmacol. – 1991. – **31**, № 3. – P. 360-362.

5. Erffmeyer J.F., McKenna M.D., Liebermann P.L. et al. Efficacy of Phenylephrine-Phenylpropanolamine in the Treatment of Rhinitis // Southern Medical J. – 1982. – **75**, № 5. – P. 120-122.

6. Garsia-Gonzalez Adolfo, Morales-Hernandez Roberto C., Portf-Gandara Miguel A. et al. Superoxide dismutase and Naproxen in the very late phase of carrageenan induced edema in rats // Rev. invest. clin. – 2000. – **52**, № 2. – P. 156-160.

7. Frossard N., Benabdesselam O., Melac M. et al. Nasaleffect cetirizine and loratidine at 24 hours in patients with allergic rhinitis // Am. J. Ther. – 1998. – **5**, № 5. – P. 307-311.

8. Keiji Udaca, Yuka Takeuchi et al. Simple method for Quantitation of Enhanced Vascular Permeability // Proc. of Soc. for Exp. Biol. and Med. – 1970. – **133**, № 4. – P. 1384-1387.

9. Letts L.G., Morgan D.W. Progress in Inflammation research: Inflammatory Processes Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities. – Birkhauser Verlag AG, Basel-Berlin-Boston, 2000. – 160 p.

10. Patel Hitesh C., Duca Jose S., Hopfinger A.J. Quantitative component analysis of mixtures for risk assessment: Application to eye irritation // Chem. Res. Toxicol. – 1999. – **12**, № 11. – P. 1050-1056.

11. Pinardi G., Sierrita F., Miranda H.F. Adrenergic mechanisms in antinociceptive effects of non steroidal anti-inflammatory drugs in acute thermal nociception in mice // Inflamm. Res. – 2002. – **51**, – № 5. – P. 219-222.

12. Sugimoto Yukio, Ishizawa Keisuke, Saitou Kouichi et al. Effect of mometasone furoate by topical application on allergic rhinitis model in rats // Pharmacology. – 2000. – **61**, № 2. – P. 91-95.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА “ОРИНОЛТМПЛЮС” (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ)

Н.А. Мохорт, Л.М. Киричок, Н.Н. Серединская
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

В опытах на разных видах лабораторных животных подтверждена целесообразность создания и использования комбинированного лекарственного препарата “ОРИНОЛТМПЛЮС”. Он оказывает противоотечное, мембраностабилизирующее, антиаллергическое действия, обусловленные вазоконстрикторной и антигистаминной активностью его ингредиентов: фенилэфрина гидрохлорида, фенилтолоксамина цитрата и хлорфенирамина малеата.

“ОРИНОЛТМПЛЮС” – малотоксичный препарат, не имеет органотропности и признаков половой чувствительности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **комбинированный препарат “ОРИНОЛТМПЛЮС”, эксперимент, вазоконстрикторная и антигистаминная активность.**

PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF PREPARATION ORINOLTMPLUS (EXPERIMENTAL DATA)

N.A. Mokhort, L.M. Kyrychok, N.N. Seredynska
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

Summary

In experiment on different laboratory animals the expediency of creation and use of combined medical product ORINOLTMPLUS is confirmed. The preparation renders antihypostasis, membranosstability, the antiallergic action, provided by vasoconstriction and antihistamine activity of its components – phenylephrinum hydrochloride, phenyltoloxaminum citric and chlorphenyraminum maleate.

ORYNOLTMPLUS is low-toxic remedy without organotropicity, and signs of sexual sensitivity.

KEY WORDS: **combined preparation ORINOLTMPLUS, experiment, vasoconstriction and antihistamine activity.**

Отримано 31.03.2003 р.

Адреса для листування: М.А. Мохорт, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Пот'є, 14, Київ, 03057, Україна.

ДИНАМІКА СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ДІТЕЙ З АЛЕРГІЧНИМ ДІАТЕЗОМ ПІСЛЯ РІЗНИХ КОМПЛЕКСІВ ТЕРАПІЇ

О.Т. Богуславець

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Стаття присвячена проблемі лікування алергічного діатезу у дітей. Наведено дані щодо впливу ербісолу на показники перекисного окиснення ліпідів, антиоксидної системи захисту, ендогенної інтоксикації у дітей з алергічним діатезом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: алергічний діатез, перекисне окиснення, антиоксидний захист, ендогенна інтоксикація, ербісол, діти.

ВСТУП. Проблема алергічного діатезу (АД) привертає увагу багатьох дослідників [1, 3, 4, 7]. Відомо, що АД – це стан, при якому порушується багато функцій організму [1, 3, 4, 6, 7]. Патологічний процес, що супроводжує його розвиток, призводить до розбалансованості фізіологічних процесів, до накопичення продуктів спотвореного обміну, які самостійно виступають алергічними агентами, утворюється “замкнене коло” постійної зміни причин та наслідків [3, 4]. Імовірно, важливою ланкою у цьому ланцюзі є наявність синдрому ендогенної інтоксикації (ЕІ). Для підтвердження цього припущення ми вважали за доцільне вивчити синдром ЕІ та вплив його на основні процеси, що проходять в організмі дитини з АД. Важливу роль у розвитку АД відіграє також стабільність плазматичних мембран, зумовлена станом перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [3, 5, 8].

У зв'язку з недостатнім вивченням процесів ПОЛ, антиоксидної системи (АОС), ЕІ серед латентних і явних проявів АД, які з часом можуть трансформуватися в істинно алергічне захворювання, відсутністю чіткого індивідуалізованого диференційного комплексу превентивного лікування АД з метою попередження маніфестації процесу залежно від факторів ризику, а також вивчення взаємозв'язку екологічних навантажень на ступінь прояву цього патологічного стану, зроблено спробу дослідити означені питання у дітей з АД.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З метою отримання інформації про рівень синдрому ЕІ визначали вміст середньомолекулярних пептидів (СМП) в плазмі крові за методикою Н.І. Габрієлян, Е.Р. Левицького, В.П. Ліпатової (1984) в модифікації С.С. Киряєва і співавт. (1990), еритроцитарний індекс ЕІ (ЕІЕІ) – за методом А.А. Тогайбаєва і співавт. (1988). Для дослідження компонентів антиоксидної системи крові використовували метод визначення білкових сульфгідрильних тіолових (SH) груп за Еламаном. Активність супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах визначали за швидкістю відновлення нітросинього тетразолію в неензиматичній системі феназин-метасульфату і НАД-Н, рівень каталази – за методикою М.С. Королюка і співавт. Визначення концентрації малонового діальдегіду (МДА) в еритроцитах проводили за загальноприйнятою методикою за допомогою реакції з тіобарбітуровою кислотою.

Під спостереженням перебувало 135 дітей віком від 1 місяця до 3 років з АД. Контрольну групу становили 20 практично здорових дітей того ж віку.

Для вивчення регіональних особливостей АД, зв'язку частоти виявлення його із екологічним станом певного територіального району, було створено дві підгрупи по 20 осіб у кожній, які формували з врахуванням регіону проживання. До першої підгрупи входили 20 дітей із районів “екологічних негараздів” – дослідна зона (надлишковий вміст важких металів, нітратів у довкіллі) (ДЗ). Другу підгрупу склали діти, які проживали в “чистих” районах області, – контрольна зона (КЗ).

Для вивчення впливу різних комплексів терапії на досліджувані показники дітей з АД було поділено на групи, кожній з яких призначали окрему лікувальну програму: програма 1 – загальноприйнята терапія (елімінаційна дієта, місцеве лікування, антигістамінний, пробіотичний, ентеросорбційний засоби); програма 2 – на тлі традиційного (загальноприйнятого) ліку-

вання застосовували ербісол (парентеральне введення) по 1-1,5 мл внутрішньом'язово 1 раз на добу протягом 12 днів; програма 3 – поряд із традиційним лікуванням призначали ербісол (ентеральне введення) по 1,5-2 мл 1 раз на добу впродовж 14 днів і підтримувальні дози даного препарату протягом 6 місяців.

Обстеження проводили за кожною із програм на трьох етапах: I етап – до лікування; II – через 3-4 тижні після лікування; III – через 9 місяців після лікування.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У хворих з АД спостерігається статистично достовірне збільшення вмісту вторинного продукту ПОЛ – МДА у 2,27 раза порівняно з показниками контролю, що підтверджує активацію процесів ПОЛ. Стан АОС характеризується статистично достовірним ($p < 0,05$) зростанням рівня сульфгідрильних SH-груп у 1,47 раза, ймовірно, компенсаторно як відповідь на посилення процесів ПОЛ.

Рівень ферментів АОС демонструє деякі протиріччя: вміст СОД достовірно знизився в 1,20 раза порівняно із даними референтної групи ($p < 0,05$), тоді як рівень каталази практично не відрізнявся від показників норми.

Вміст каталази найбільше залежав від віку. До 12 місяців, незважаючи на те, що синтез ферментів АОС є недостатнім через недосконалість функції печінки, рівень каталази перевищував норму у 1,21-1,72 раза, а після 1 року зменшувався, порівняно з нормою, у 1,21-1,72 раза. Це, мабуть, пов'язано з особливістю адаптаційних механізмів та відповіддю на шкідливі впливи у дітей з АД. Очевидно, у пацієнтів цієї групи синтез ферментів АОС блокувався в результаті токсичного впливу патологічного обміну.

Спостерігається, ймовірно, компенсаторне підвищення рівня SH-груп при посиленні патологічного процесу. Вміст каталази при легких формах АД компенсаторно збільшувався у 1,42-1,86 раза, а при посиленні процесу, коли вичерпувались механізми АОС, зменшувався у 1,81-1,85 раза, демонструючи посилення пероксидації мембранних ліпідів, яка спричиняє значний пошкоджувальний вплив на біологічні мембрани.

Враховуючи, що нітрати належать до сполук з досить вираженою окиснювальною дією, було досліджено процеси ПОЛ у дітей із різних екологічних зон. У дітей із ДЗ збільшення показника МДА виявляється в 1,13 раза частіше, ніж у пацієнтів із КЗ.

У дітей з ДЗ спостерігались статистично достовірне підвищення рівня МДА у 1,11 раза ($p < 0,05$) та зниження рівня СОД у 1,19 раза ($p < 0,05$) порівняно з КЗ. Тенденція до збільшення вмісту SH-груп на 8 % вказує на зменшення функціонального резерву біоанти-

оксидної системи. Наведені дані свідчать про те, що у дітей із ДЗ відбувається активація процесів ПОЛ. Отже, в генезі порушень стану здоров'я дітей внаслідок хронічної нітратної інтоксикації суттєву роль відіграє оксидний стрес, який супроводжується інтенсифікацією процесів ПОЛ на тлі пригнічення АОС [2].

Отримані результати можна пояснити тим, що в нормальних фізіологічних умовах дію патологічних компонентів ПОЛ проводиться нейтралізує АОС, однак при дії чинника, який перевищує можливості захисно-приспосувальних резервів організму, відбувається зрив адекватної відповіді антиоксидних процесів. Аналогічні висновки зроблені і іншими дослідниками [2].

Таким чином, проведені нами дослідження свідчать про те, що АД, який розвивається на тлі підвищеного надходження в організм токсичних речовин із зовнішнього середовища, характеризується активацією процесів ПОЛ на фоні пригнічення активності ферментів антиоксидного захисту. Отже, зміни показників ПОЛ у дітей з АД також опосередковано можна вважати біометричним показником екологічного стану довкілля.

Отже, АД сприяє дисбалансу процесів ПОЛ-АОС, що призводить до структурних порушень біологічних мембран, розвитку значних патологічних змін на субклітинному, клітинному, органному та системному рівнях. Перераховані дані вказують на необхідність проведення антиоксидної та мембраностабілізуювальної терапії для корекції виявлених змін та ретельного диспансерного спостереження.

Суть ЕІ полягає в накопиченні в крові токсинів, які утворюються в результаті підвищення активності катаболічних процесів при зниженні детоксикаційної спроможності організму. ЕІ має вплив на множинні ланки патогенезу, що поглиблюють стан патологічної напруженості АД [8].

На нашу думку, клінічна симптоматика синдрому ЕІ, ступінь його вираження пов'язані зі здатністю організму знешкодити токсичні продукти ендо- та екзогенного походження.

У дітей із АД виявлено статистично достовірне зростання вмісту СМП₁, СМП₂ та ЕІЕІ порівняно з показниками здорових дітей ($p < 0,05$), що вказує на наявність синдрому ЕІ, вираження катаболічних процесів у дітей з АД, порушення функцій детоксикаційних систем організму. Рівні СМП₁ в 1,51 раза, а СМП₂ в 1,40 раза перевищували аналогічні показники контрольної групи. Це свідчить про наявність порушень гомеостазу – з однієї сторони та недостатню детоксикаційну здатність печінки та нирок – з іншої. Найсуттєвіші зміни прослідковувались у ЕІЕІ, який зростав у 2,01 раза порівняно з референтною групою. Збільшення

EIEI, ймовірно, пов'язане з порушенням функціональної активності еритроцитів, зниженням їх сорбційної здатності, зменшенням електричного потенціалу мембран еритроцитів.

Рівень СМП може бути маркером ураження печінки, фактором ризику захворювань даного органа у дітей з АД [8]. Збільшення вмісту СМП₂ – пул, який включає в себе насичені та ненасичені жирні кислоти, їх ефіри, холестерин, фосфоліпіди, олігоспирти та глюкуронову кислоту – свідчить про глибокі порушення детоксикаційної функції печінки. У ході нашого дослідження виявлено, що у 25,00 % дітей із підвищенням рівня показників EI зростав вміст трансаміназ. У 12,50 % пацієнтів із підвищенням показників СМП в сироватці крові у 1,5-2 рази спостерігалось збільшення рівня трансаміназ при відсутності клінічних ознак ураження печінки.

У 8,33 % обстежених дітей прослідковано співвідношення СМП₁/СМП₂=1, що, за даними літератури, є прогностично небезпечним [8]. Ступінь АД у них відповідав високому, а варіант АД – поєднана алергія. У цих пацієнтів спостерігалось також зростання трансаміназ (у 1,2-1,4 рази порівняно з показниками норми), що, очевидно, свідчить про зниження детоксикаційної здатності печінки та можливість розвитку у дітей даної категорії маніфестної форми АД.

Відмічено тенденцію до вищих показників СМП в крові у хлопчиків порівняно з дівчатками, що вказує на більш виражену недостатність детоксикаційної системи у осіб чоловічої статі.

Зростання вмісту СМП та концентрації EIEI у більшості пацієнтів в міру посилення патологічного процесу відповідало яскравішим клінічним ознакам ендотоксикозу, таким, як в'ялість, знижений апетит, надмірна дратівливість. Але у 2 дітей із високим ступенем АД та у 1 дитини із латентною формою діагностовано III ступінь інтоксикації, що вказує на невідповідність клінічних ознак об'єктивній картині патологічних змін при АД. Аналогічних повідомлень в доступних літературних джерелах не знайдено.

Виявлено статистично достовірно підвищення рівня СМП₁ на 17,51 % та СМП₂ на 13,36 % у пацієнтів із ДЗ порівняно з КЗ ($p < 0,05$). Помічено також тенденцію ($p > 0,05$) до зростання концентрації EIEI у дітей із ДЗ. У дітей із ДЗ збільшення показників СМП спостерігалось у 1,12-1,18 рази частіше, ніж у пацієнтів із КЗ. Аналогічний показник для EIEI становить 1,06 рази. У 75,00 % дітей із ДЗ, в яких підвищений рівень СМП, відзначено ознаки холепатії, які супроводжувались у 5,00 % дітей збільшенням вмісту трансаміназ, а у решти – класичними клінічними проявами.

На основі отриманих результатів зроблено висновок, що при АД в комплекс лікувально-

профілактичних заходів доцільно і патогенетично обґрунтовано включити препарат, що одночасно проявляє протизапальну, антигістамінну, репаративну, мембраностабілізуювальну, антиоксидантну, гепатопротекційну дію з властивістю індуктора інтерферону, засіб, що рекомендований при негативних екологічних впливах. Означеним вимогам відповідає ербісол. Показаннями до призначення препарату були наявність ускладнень АД – вторинного інфікування, важкість перебігу, відсутність вираженого позитивного ефекту від дієтотерапії, відсутність позитивної динаміки від загальноприйнятих способів лікування, а також ознаки імунологічної недостатності, гепатохолецистопатій, зниження загальної резистентності у дітей з АД, які часто хворіють порушення процесів АОСЗ та ПОЛ на тлі синдрому EI.

Побічної дії препарату та індивідуальної непереносимості не зафіксовано.

У дітей з АД після проведення лікувальних комплексів за різними програмами відмічено покращання у клінічному статусі. Проте найбільш виразними результати були у хворих за 2 програмами (парентеральне призначення ербісолу) та 3 (пероральне введення ербісолу із подальшим призначенням підтримувальних доз).

Лікування з застосуванням ербісолу у дітей із АД безпосередньо впливає на процеси ПОЛ, пригнічуючи їх інтенсивність та активуючи процеси АОС (табл. 1). Найвагоміші результати спостерігались при призначенні лікування за програмою 3: зменшується рівень МДА в 1,86 рази порівняно з показниками до лікування, підвищується вміст СОД в 1,21 рази та каталази в 1,12 рази, які до проведення корекції перебували в стані глибокого пригнічення, знижується рівень SH-груп в 1,39 рази з максимальним наближенням до норми.

Результати проведених досліджень через 9 місяців (III етап обстеження) демонструють достовірне зниження рівня МДА на 46,34 %, вірогідне збільшення вмісту СОД на 20,71 %, тенденцію до зростання рівня каталази на 11,75 %, що максимально наближає дані показники до значень норми. Отже, ербісол сприяє регуляції процесів перекисного окиснення, зменшенню гіпоксії і вмісту продуктів пероксидації, особливо при застосуванні його у дітей із АД за програмою 3.

Аналіз отриманих результатів показав, що у дітей, які отримували традиційне лікування за програмою 1, показники ПОЛ не нормалізувались до кінця терапії у 73,33 %. Включення ербісолу за програмою 3 позитивно вплинуло на показники, що досліджуються, змінені значення зберігались тільки у 13,34 %. Таким чином, традиційне лікування значно менше

впливає на нормалізацію показників ПОЛ та АОСЗ, ніж лікування із застосуванням ербісолу.

Таким чином, при використанні ербісолу у дітей з АД виявлено чіткий антиоксидний і мембраностабілізуючі ефекти. Дані факти можна пояснити процесами, що проходять на рівні плазматичних мембран опасистих клітин, зміцнення яких, очевидно, перешкоджає формуванню явищ сенсibiliзації.

Якщо після традиційного лікування зберігався підвищений вміст показників синдрому EI у 73,33 % дітей, то після призначення ербісолу досліджувані параметри суттєво зменшились, наближаючись до норми, і тільки у 40,00 % дітей показники не відповідали нормі у пацієнтів за програмою 2 та у 13,34 % – за програмою 3. Нормалізація маркерів синдрому EI важлива і стосовно покращання інших гомеостатичних параметрів. Адже, ендотоксини порушують окисно-відновні процеси на рівні клітини, патологічно змінюють клітинний метаболізм, а продукти зміненого обміну можуть ставати аутоангенами і призвести до пригнічення імунних процесів [6].

Через 9 місяців після лікування (III етап) значення СМП₁ статистично достовірно ($p < 0,05$) зменшилось на 34,19 % порівняно із показником до лікування і практично не відрізнялось від нормальних значень ((282,70±10,72) ум. од., норма – (278,90±8,01) ум. од.), значення СМП₂ зменшилось на 20,29 % із наблі-

женням до нормальних значень ((149,70±6,38) ум. од., норма – (139,70±5,93) ум. од.) (табл. 2). Виявлено поступове, з кожним етапом статистично достовірне ($p < 0,05$) зниження рівня EIEI за програмою 3: на II етапі – на 36,45 %, а на III етапі – на 48,75 %, що максимально наблизило його до нормальних величин. Можна робити висновок про високу ефективність на тлі загальноприйнятого лікування ербісолу за програмою 3, що дозволило покращити лабораторні показники EI та зменшити або повністю ліквідувати клінічні прояви інтоксикації.

Критерієм ефективності було досягнення стійкої ремісії при хронічному перебізі. Ми вважаємо це достатнім результатом лікування та повного зникнення клінічних ознак у випадку первинних проявів.

ВИСНОВКИ. 1. При АД виявлено суттєві взаємопотенціюючі зміни ПОЛ, АОС на тлі синдрому EI. У дітей із зони з підвищеним вмістом важких металів та нітратів у довіллі спостерігалось посилення патологічних змін означених метаболічних процесів.

2. Включення ербісолу в комплекс програму лікувально-профілактичних заходів у дітей з АД призвело до стійкого покращання клініко-лабораторних показників. Проведене дослідження довело високу клінічну ефективність препарату у дітей із АД, добру переносимість, відсутність побічних реакцій при лікуванні.

Таблиця 1 – Динаміка вмісту продуктів ПОЛ та показників АОСЗ дітей з АД в залежності від комплексу терапії

Показник	Стат. ст.	Норма	1 програма			2 програма			3 програма		
			Етапи обстеження			Етапи обстеження			Етапи обстеження		
			I	II	III	I	II	III	I	II	III
МДА, мкмоль/л	M m	2,75 0,14	6,26 [^] 0,39	6,15 [^] 0,48	6,25 [^] 0,23	6,11 [^] 0,12	3,48 ^{**^} 0,22	4,91 ^{**^} 0,34	6,28 [^] 0,29	4,71 ^{**^} 0,29	3,37 ^{**^} 0,22
СОД, ум. од./мл	M m	61,77 1,22	50,15 [^] 2,45	52,50 [^] 1,25	51,67 [^] 1,47	50,93 [^] 1,23	57,87 [*] 1,64	53,47 [^] 1,56	50,31 [^] 2,16	53,87 [^] 1,15	60,73 ^{**^} 1,19
Каталаза, %	M m	18,98 0,50	15,99 4,13	16,60 1,23	15,85 1,76	15,96 2,64	17,74 0,8	16,67 1,49	16,42 3,23	17,45 1,88	18,35 0,53
SH-групи, ммоль/л	M m	61,48 1,57	87,98 [^] 3,96	81,40 [^] 1,14	86,27 [^] 3,41	86,62 [^] * 3,55	65,13 ^{**^} 3,10	83,40 ^{**^} 3,84	87,46 [^] 6,39	78,73 ^{**^} 5,41	62,87 ^{**^} 1,03

Примітка: * – достовірність у порівнянні з показниками на I етапі (до лікування); $p < 0,05$;
 * – достовірність у порівнянні показників між відповідними групами у кожній із програм; $p < 0,05$;
 ^ – достовірність у порівнянні з показниками референтної групи; $p < 0,05$

Таблиця 2 – Динаміка показників EI у дітей з АД в залежності від комплексу терапії

Показник	Стат. ст.	Норма	1 програма			2 програма			3 програма		
			Етапи обстеження			Етапи обстеження			Етапи обстеження		
			I	II	III	I	II	III	I	II	III
СМП ₁ , ум.од.	M m	278,9 8,01	426,5 [^] 23,51	327,4 [*] 22,59	370,3 [^] 17,45	434,5 [^] 24,84	290,3 ^{**^} 14,88	365,2 ^{**^} 22,06	429,6 [^] 24,72	318,2 ^{**^} 14,03	282,7 ^{**^} 10,72
СМП ₂ , ум.од.	M m	139,7 5,93	193,6 [^] 11,55	158,3 [*] 7,78	182,6 [^] 9,71	186,3 [^] 12,14	141,9 ^{**^} 4,25	185,7 ^{**^} 13,05	187,8 [^] 9,16	156,7 ^{**^} 5,28	149,7 ^{**^} 6,38
EIEI, %	M m	22,83 0,83	45,04 [^] 2,79	31,93 ^{**^} 2,01	39,00 ^{**^} 1,93	46,70 [^] 3,61	24,20 ^{**^} 1,72	36,2 ^{**^} 2,87	46,69 [^] 2,57	29,67 ^{**^} 2,11	23,93 ^{**^} 1,68

Примітка: * – достовірність у порівнянні з показниками на I етапі (до лікування); $p < 0,05$;
 * – достовірність у порівнянні показників між відповідними групами в кожній із програм; $p < 0,05$;
 ^ – достовірність у порівнянні з показниками референтної групи; $p < 0,05$.

3. Ербісол характеризується вираженими протизапальними і дезінтоксикаційними властивостями, покращує показники "метаболічної інтоксикації", ефективний в комплексному лікуванні хворих із проявами інтоксикаційного синдрому при АД.

4. Включення ербісолу в лікувально-профілактичний комплекс заходів при АД ефективно сприяє покращанню показників ПОЛ, АОС.

5. При відсутності ефекту від елімінаційної дієти та традиційних методів, високій частоті алергічних реакцій, явищах під'єднання алер-

гізації дихальних шляхів, ефективний в комплексному лікуванні хворих із проявами інтоксикаційного синдрому при АД, схильності до частих і затяжних ГРВІ введення ербісолу в комплекс лікувально-профілактичних заходів сприяє покращанню клініко-лабораторного стану дітей з АД, зниженню трансформації латентних форм алергічної аномалії конституції у явні, зворотному розвитку патологічних змін при явному АД та запобіганню розвитку алергічних захворювань на тлі алергічної аномалії конституції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вельтищев Ю.Е., Святкина О.Б. Атопическая аллергия у детей // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. – 1995. – № 5. – С. 4-10.

2. Горішна О.В. Рівень оксиду азоту в крові дітей, які вживають питну воду з підвищеним вмістом нітратів // Перинатологія та педіатрія. – 2002. – № 1. – С. 50-52.

3. Ласиця О.І. Основні положення щодо діагностики і лікування атопічного дерматиту // Запорозький мед. журн. – 2001. – № 1 (8). – С. 65-70.

4. Помиткіна Л.Р. Патогенетичні аспекти алергічного (атопічного) діатезу у дітей // Педіатрія, акушерство, гінекологія. – 1998. – № 3. – С. 26-28.

5. Прахин Е.И., Терещенко С.Ю. Липиды плазматических мембран и липидные медиаторы воспа-

ления у детей с атопическими заболеваниями – роль в патогенезе и возможные пути коррекции // Педиатр. – 2000. – № 2. – С. 82-88.

6. Радіонов В.Г., Бесполудін Є.Д. Соціально-біологічні аспекти формування алергічних захворювань шкіри у дітей // Укр. мед. альманах. – 2001. – № 2. – С. 181-183.

7. Світайло О.А. Про патогенетичні механізми алергічного діатезу у дітей // ПАГ. – 1998. – № 5. – С. 36-38.

8. Федорців О.Є. Клініко-патогенетичне обґрунтування комплексної терапії хронічних розладів живлення у дітей раннього віку: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук: 14.01.10 / Інститут педіатрії, акушерства та гінекології АМН України. – К., 1998. – 35 с.

ДИНАМИКА СОСТОЯНИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКСИДНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ДИАТЕЗОМ ПОСЛЕ РАЗНЫХ КОМПЛЕКСОВ ТЕРАПИИ

О.Т. Богуславец

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Статья посвящена проблеме лечения аллергического диатеза у детей. Приведены данные о влиянии эрбисола на показатели перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы защиты, эндогенной интоксикации у детей с аллергическим диатезом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **аллергический диатез, перекисное окисление, антиоксидантная защита, эндогенная интоксикация, эрбисол, дети.**

DYNAMICS OF STATE OF LIPID PEROXIDATION, ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM AND ENDOGENOUS INTOXICATION IN CHILDREN WITH ALLERGIC DIATHESIS AFTER DIFFERENT TREATMENT COMPLEXES

O.T. Bohuslavets

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The article is devoted to the problem of treatment of allergic diathesis in children. The authors present the data about the influence of erbisol on indices of lipid peroxidation, antioxidant protection system, endogenous intoxication in children with allergic diathesis.

KEY WORDS: **allergic diathesis, lipid peroxidation, antioxidant protection system, endogenous intoxication, erbisol, children.**

Отримано 08.04.2003 р.

Адреса для листування: О.Т. Богуславец, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ВІДПОВІДНІ РЕАКЦІЇ АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ НА ДІЮ ФУНГІЦИДУ КУПРОКСАТУ

О.П. Безруков¹, І.І. Руднева², О.Б. Мельнікова²

КРИМСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, СІМФЕРОПОЛЬ¹
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ПІВДЕННИХ МОРИВ НАН УКРАЇНИ, СЕВАСТОПОЛЬ²

Досліджували дію фунгіциду купроксату у концентраціях 0,625, 1,25 та 2,5 мг/особину на активність антиоксидних ферментів крові щурів через 2 тижні після годування. Концентрація 0,625 мг/особину не викликала достовірних змін активності ферментів. Встановлено, що найбільш чутливим до дії купроксату ферментом є каталаза, рівень якої зростає більш ніж на 90 % вже при концентрації 1,25 мг/особину. Достовірні зміни відмічено стосовно супероксиддисмутази та глутатіонтрансферази, тоді як активність пероксидази та глутатіонредуктази змінювалась незначно.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пестицид купроксат, антиоксидні ферменти крові, щури, щитоподібна залоза.

ВСТУП. Підсилення антропогенного впливу на біосферу призводить до гострого погіршення екологічної ситуації і, як наслідок здоров'я людини та тварин. Інтенсивна господарська діяльність людини пов'язана з величезними викидами в навколишнє середовище ксенобіотиків, які чинять несприятливий вплив на захисні, адаптогенні та нейроендокринні механізми живих істот [6, 11, 12]. У цьому відношенні особливу небезпеку викликають пестициди, які широко застосовують у сільському господарстві та як засіб побутової хімії. Стійкість ксенобіотиків, що трансформуються по харчових рядах та акумулюються в органах і тканинах, а також подібність їх хімічної структури із структурою деяких гормонів, роблять їх надто небезпечними для людини і тварин [2-4, 12]. На цьому обґрунтовано вивчення дії пестицидів на живі організми та відповідних реакцій живих систем на токсичний вплив ксенобіотиків, що зараз дуже актуально.

На сьогоднішній час одним із найбільш широко застосовуваних пестицидів є фунгіцид купроксат, що являє собою суспензію дрібнозернистого триосновного сульфату міді. Дія препарату спрямована на запобігання проростанню спор грибів. Він використовується для обробки багатьох сільськогосподарських куль-

© О.П. Безруков – к.мед.н., І.І. Руднева – д.біол.н., О.Б. Мельнікова, 2003.

тур, таких, як картопля, помідори, виноград. Хімічні та фізичні властивості пестициду відповідають вимогам FAO, він малотоксичний для теплокровних та людини. Однак необхідно враховувати той факт, що навіть невеликі дози пестицидів, потрапляючи у навколишнє середовище, здатні трансформуватися та накопичуватися у живих організмах, в тому числі у тих, що є їжею людини. З'явився інтерес оцінити ефект малих доз купроксату на щурів. У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення відповідних реакцій захисної антиоксидантної системи крові щурів на дію різноманітних доз фунгіциду, що поглинаються тваринами з їжею.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на щурах масою 67-100 г через 14 днів після введення з їжею суспензії купроксату у концентраціях 2,5, 1,25 та 0,625 мг на тварину. В кожній групі (контрольній та трьох дослідних) було по 5 щурів. Тварин декапітували, забирали в них кров. Сироватку відділяли шляхом центрифугування, еритроцити багаторазово промивали холодним фізіологічним розчином. Гомолізати отримували шляхом додавання до еритроцитів дестильованої води в співвідношенні 1:5 (об'єм/об'єм). Визначення активності ферментів проводили у гемолізатах, розчинених у 100 разів [10].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом [15], каталази – за реакцією розчинення перекису водню [1], активність пероксидази – за реакцією з безидином [8], глутатіонредуктази – за реакцією окиснення НАДФН у присутності окисненого глутатіону [9], глутатіонтрансферази – за утворенням кон'югатів 1-хлор-2,4-динітробензолу з глутатіоном [9].

Отриманий результат оброблювали статистично [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали, що при дії різноманітних концентрацій купроксату в еритроцитах щурів змінюється активність антиоксидних ферментів (рис. 1). При концентрації фунгіциду 0,625 мг/особину активність каталази практично не змінюється, тоді як при вищих концентраціях цей параметр збільшується майже в 2 рази. Активність пероксидази зростає незначно. Найчутливішою до збільшеного утримання фунгіциду в їжі тварин виявилась активність каталази, яка підвищувалась більше ніж на 90 % вже при концентрації 1,25 мг/особину.

Активність ферментів глутатіонової системи (глутатіонредуктази і глутатіонтрансферази) мала протилежну динаміку – збільшувалась у випадку глутатіонтрансферази та зменшувалась у випадку глутатіонредуктази.

Як свідчать дані, наведені в таблиці 1, активність усіх досліджуваних ферментів достовірно не змінюється при концентрації купроксату 0,625 мг/особину. При утримуванні в їжі фунгіциду концентрація якого становить 1,25 мг/особину, достовірні відмінності відмічено щодо активності каталази та глутатіонтрансферази, а при концентрації 2,5 мг/особину – також і стосовно СОД.

На підставі отриманих результатів можна стверджувати, що при потрапленні купроксату в організм відбувається активація основних ферментів захисної антиоксидної системи крові. При цьому простежується значна динаміка відповідної реакції антиоксидної системи на дію фунгіциду: концентрація 0,625 мг/особину не

викликає достовірних змін, концентрація 1,25 мг/особину стимулює активність каталази і глутатіонтрансферази, а концентрація 2,5 мг/особину – двох попередніх ферментів та СОД. Таким чином, хронічна інтоксикація фунгіцидом призводить до виразної відповідної реакції організму з боку ферної антиоксидної системи.

Слід відмітити, що становище антиперекисної захисної системи тісно корелює з імунною системою та гормональним статусом, перш за все з рівнем тиреоїдних гормонів [13, 14]. Як гіпо-, так і гіпертиреозидизм призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення та, як наслідок, до індукції ферментів антиоксидної системи. Стресові ситуації, викликані дією різноманітних несприятливих факторів (фізичних, хімічних та біологічних) спричиняють як токсичну відповідь (ураження клітинних структур та біомолекул), так і адаптивну, зумовлену активацією захисних систем [6, 16].

Крім того, ксенобіотики і, частково, пестициди мають здатність ушкоджувати структуру молекул гормонів, що призводить до порушення обміну речовин, канцерогенезу та загибелі організму [5, 6]. У зв'язку з цим, на сьогодні актуальним є пошук біомаркерів, що характеризують реакцію організму на стрес, викликаний потрапленням ксенобіотиків. У цьому відношенні активність антиоксидних ферментів може бути зручним молекулярним індикатором для відмітки адаптивної та токсичної реакції організму на дію ксенобіотиків.

ВИСНОВКИ. 1. Установлено індукцію активності антиоксидних ферментів крові щурів при додаванні в їжу фунгіциду купроксату.

2. Виявлено, що відповідна реакція антиоксидних ферментів пропорційна концентрації фунгіциду.

3. Найбільш чутливими до дії фунгіциду ферментами були каталаза, СОД та глутатіонтрансфераза.

4. Досліджувані показники повинні бути інформативними біомаркерами за для відмітки стресових та патологічних станів.

Таблиця 1 – Активність ферментів еритроцитів щурів при дії купроксату (на мг гемоглобіна/хвилину)

Фермент	Концентрація купроксату, мг/особину			
	контроль	0,625	1,25	2,50
Каталаза, мг H ₂ O ₂	0,25±0,03	0,216±0,09	0,50±0,05*	0,46±0,04*
СОД, умовні одиниці x10 ²	2,37±0,69	3,97±0,88	4,44±0,75	8,35±0,16*
Пероксидаза, оптичні одиниці	3,95±0,42	4,54±0,83	3,58±0,35	3,25±0,64
Глутатіонредуктаза, нмоль НАДФН	5,45±0,85	3,48±0,38	3,36±0,64	2,88±0,25
Глутатіонтрансфераза, нмоль кон'югата x10 ²	0,31±0,06	0,34±0,07	0,95±0,12*	1,09±0,63*

Примітка: * – відмінність вірогідна відносно контролю

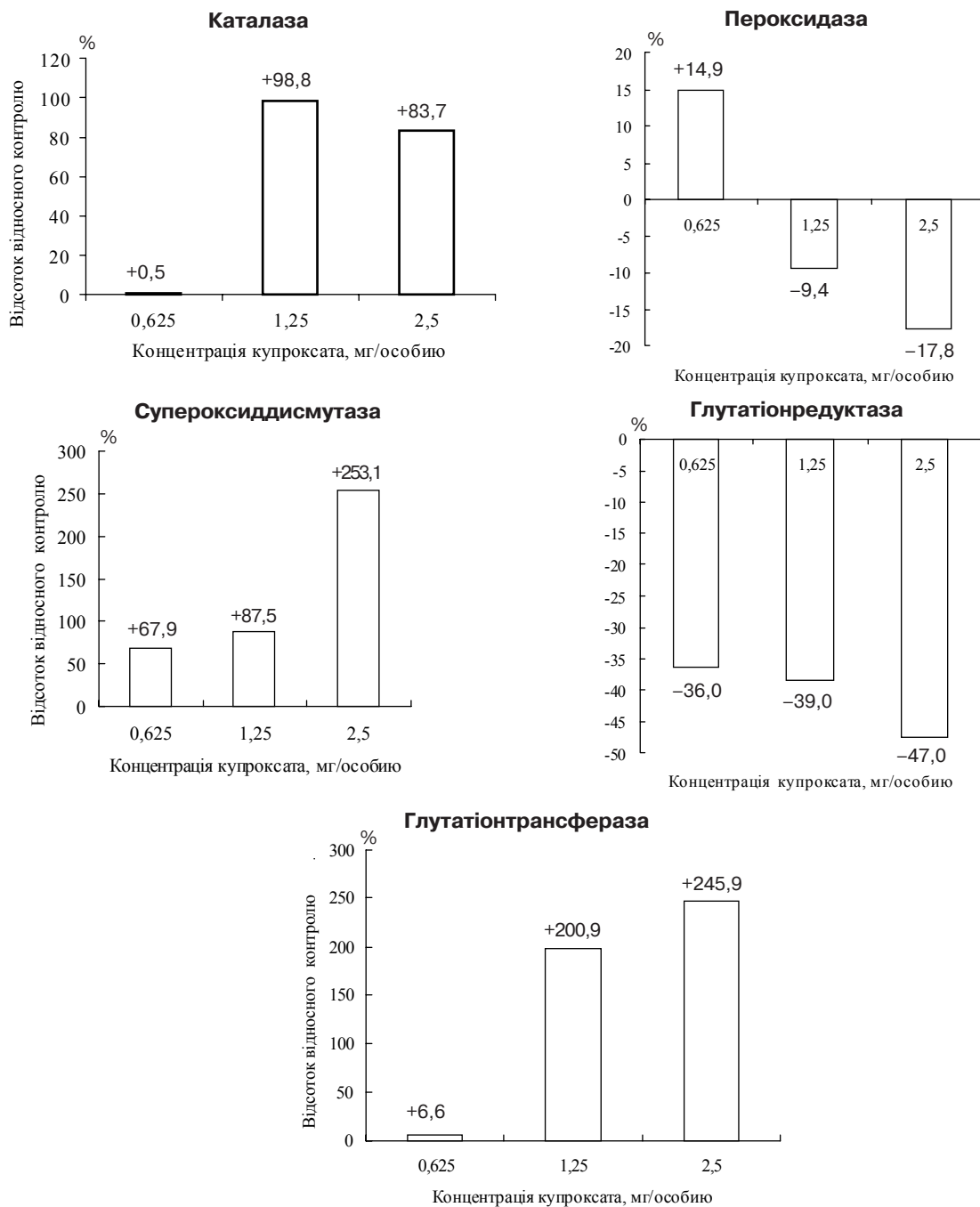


Рис. 1. Зміна активності ферментів у крові щурів при дії купроксату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа. – М.: Наука, 1969. – 611 с.
2. Борисенко Н.Ф., Кучак Ю.А. Влияние ртути-органических пестицидов на окружающую среду и здоровье населения // Гигиена и санитария. – 1981. – № 12. – С. 65-69.
3. Брагинский Л.П., Комаровский Ф.Я., Мерезко А.И. Персистентные пестициды в экологии пресных вод. – К.: Наук. думка, 1979. – 143 с.
4. Брагинский Л.П. Пестициды и жизнь водоемов. – К.: Наук. думка, 1972. – 227 с.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
6. Головенко Н.Я., Карасева Т.Л. Сравнительная биохимия чужеродных соединений. – К.: Наук. думка, 1983. – 200 с.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
8. Литвин Ф.Ф. Практикум по физико-химическим методам в биологии. М.: Из-во МГУ, 1981. – С. 86-87.

9. Переслегина И.А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. – № 11. – С. 20-23.

10. Троицкая О.В. Электрофорез гемоглобинов на ацетатцеллюлозе // Со-врем. методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 241-248.

11. Шибанов С.Э. Экологическая ситуация и состояние здоровья населения Крыма // Экология регионов и здоровье населения. Теория и практика: Материалы Республиканской конференции. – Симферополь, 2000. – С. 58-62.

12. Benedict R.E. Human population and environmental stress // Environmental changes security project report: The Woodroe Wilson Center. – 2000. – 6. – P. 3-18.

13. Cremaschi G., Gorelik G., Klecha A.J. et al.

Chronic stress influences the immune system through the thyroid axis // Life Sciences. – 2000. – 67, issue 26. – P. 3171-3179.

14. Dakine N., Oliver Ch., Grino M. Effects of experimental hypothyroidism on the development of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in rat // Life Sciences. – 2000. – 67, issue 23. – P. 2827-2844.

15. Nishikimi M., Rao N.A., Yagik K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1972. – 46, № 2. – P. 849 -854.

16. Sabatino L., Iervasi G., Ferrazzi P. et al. A study of iodothyronine 5'-monodeiodinase activities in normal and pathological tissues in man and their comparison with activities in rat tissues // Life Sciences. – 2000. – 67, issue 2. – P. 191-202.

ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ АНТИОКСИДНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КРЫС НА ДЕЙСТВИЕ ФУНГИЦИДА КУПРОКСАТА

О.Ф. Безруков¹, И.И. Руднева², Е.Б. Мельникова²

*КРЫМСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ, СИМФЕРОПОЛЬ¹
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ НАН УКРАИНЫ, СЕВАСТОПОЛЬ²*

Резюме

Исследовали действие фунгицида купроксата в концентрациях 0,625, 1,25 и 2,5 мг/особь на активность антиоксидантных ферментов крови крыс через 2 недели после кормления. Концентрация 0,625 мг/особь не вызывала достоверных изменений активности ферментов. Установлено, что наиболее чувствительным к действию купроксата ферментом является каталаза, уровень которой возрастает более чем на 90 % уже при концентрации 1,25 мг/особь. Достоверные изменения отмечены относительно супероксиддисмутазы и глутатионтрансферазы, тогда как активность пероксидазы и глутатионредуктазы изменялась незначительно.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пестицид купроксат, антиоксидантные ферменты крови, крысы, щитовидная железа.

THE RESPONSES OF BLOOD ANTIOXIDANT ENZYME SYSTEM OF RATS ON FUNGICIDE CUPROKSAT EFFECT

O.F. Bezrukov¹, I.I. Rudneva², E.B. Melnikova²

*CRIMEAN MEDICAL STATE UNIVERSITY, SIMFEROPOL¹
INSTITUTE OF THE BIOLOGY OF THE SOUTHERN SEAS OF UKRAINIAN NAS, SEVASTOPOL²*

Summary

Effect of fungicide cuproksat in concentrations of 0,625, 1,25 and 2,5 mg per animal on blood antioxidant enzyme activities of rats after 2 weeks of feeding was studied. Enzyme activities were not changed at the cuproksat concentration of 0,625 mg per animal. The most sensitive enzyme for cuproksat is catalase. Its activity is elevated more than 90 % at the concentration 1,25 mg per animal. Significant changes were determined for SOD and glutathione transferase activities while peroxidase and glutathionreductase activity was changed insignificantly.

KEY WORDS: pesticide cuproksat, blood antioxidant enzymes, rats, thyroid gland.

Отримано 19.09.2002 р.

Адреса для листування: О.П. Безруков, вул. Остриякова, 8, кв. 34, Симферополь, 95022, Україна.

СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПРОТИРАДИКАЛЬНОГО ЗАХИСТУ В ЗОРОВОМУ НЕРВІ У КРОЛИКІВ З МЕТАНОЛОВОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ

М.Р. Радченко

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

Для визначення ролі процесів ліпопероксидації і змін активності ферментів протирадикального захисту в патогенезі ушкодження зорового нерва при метаноловій інтоксикації у роботі використано 40 статевозрілих кроликів-самців породи Шиншила. Моделювання ураження зорового нерва проводили шляхом внутрішньовенного введення метилового спирту в дозі 1,8 г на 1 кг маси тіла.

Встановлено, що первинно-альтераційні зміни структур зорового нерва при метаноловій інтоксикації реалізуються через інтенсифікацію процесів ліпопероксидації, що розповсюджуються від ретробульбарної ділянки зорового нерва до хіазми. Збільшення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів в тканинах зорового нерва відбувається на тлі пригнічення активності супероксиддисмутази і каталази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метанол, зоровий нерв, ліпопероксидація, супероксиддисмутаза, каталаза.

ВСТУП. Питома вага атрофій зорового нерва (АЗН) серед причин сліпоти та інвалідності в Україні є дуже значною. Деякою мірою це зумовлено тим, що АЗН – результат багатьох захворювань. Етіологічні фактори, що призводять до АЗН, різноманітні й визначають особливості механізмів дистрофії і лізису нейронів зорового нерва при запальному процесі, судинних порушеннях, інтоксикаціях. У ряді випадків походження АЗН залишається нез'ясованим. Серед численних токсикоалергічних і токсичних захворювань зорового аналізатора в клінічній практиці великий відсоток належить отруєнню хворих метиловим спиртом. Цей вид алкоголю є високотоксичною вибірковою отрутою для зорового нерва. Однак, незалежно від причини, розрив та зруйнування в будь-якому місці аксона завжди призводять до загибелі нейрона [7]. Універсальними механізмами, через які реалізується ушкодження тканин і клітин, є мембранні процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що закономірно супроводжуються інтенсифікацією пероксидної модифікації білків і літичним розпадом конституційних, функціональних і структурованих протеїнів [4].

Метою роботи було з'ясувати роль процесів ліпопероксидації і змін активності ферментів

протирадикального захисту в патогенезі ушкодження зорового нерва при метаноловій інтоксикації кроликів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використано 40 статевозрілих кроликів-самців породи Шиншила (маса тіла – 3,0-3,2 кг). Моделювання ураження зорового нерва проводили шляхом внутрішньовенного введення метилового спирту в дозі 1,8 г на 1 кг маси тіла, розводячи метанол 0,9 % розчином натрію хлориду вдвічі. Для біохімічних досліджень тканину зорового нерва виділяли одразу після евтаназії кроликів (передозування тіопенталового наркозу) і заморожували в рідкому азоті. Наважки ділянок зорового нерва гомогенізували в 2,0 мл фосфатного буфера (рН=7,4). Активність супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1] визначали за методом С. Чеварі та співавт. [11], рівень дієнових кон'югатів – за методом В.Б. Гаврилова, М.І. Мишкорудної [5], малонового діальдегіду – за методикою І.Д. Стальної, Т.Г. Гарішвілі [10], активність каталази [КФ 1.11.1.6] – за М.А. Королюком та співавт. [8].

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

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Ми вважали за доцільне визначити динаміку змін ліпопероксидації і активності ферментів протирадикального захисту в різних ділянках ураженого метанолом зорового нерва. Для дослідження обрано такі три ділянки: перша – 3 мм від виходу зорового нерва з очного яблука, друга – на середині між виходом зорового нерва з орбіти і хіазмою, третя – 3 мм зорового нерва до утворення хіазми. Аналіз динаміки змін вмісту в зоровому нерві про-

дуктів ПОЛ і активності ферментів протирадикального захисту наведено у таблиці 1. У першій ділянці зорового нерва через 7 діб після введення кроликам метилового спирту вміст дієнових кон'югатів збільшувався на 68,1 %, через 2 тижні відносно контролю спостерігалось підвищення кількості дієнових кон'югатів на 93,9 %, а на 30-ту добу експерименту їх рівень залишався більшим за контроль на 61,2 %. Відповідні зміни вмісту малонового діальдегіду склали 52,1, 85,8 і 54,7 %, що

Таблиця 1 – Динаміка змін вмісту продуктів ліпопероксидації та активності ферментів протирадикального захисту в тканині зорового нерва у кроликів з метаноловою інтоксикацією ($\bar{x} \pm Sx$)

Групи тварин	Дієнові кон'югати, мкмоль/1 мг білка	Малоновий діальдегід, мкмоль/1 мг білка	Каталаза, мкмоль H_2O_2 /1 мг білка за 1 хв	Супероксиддисмутаза, од/1 мг білка за 1 хв
перша ділянка зорового нерва				
Контроль n=10	0,784±0,039	2,092±0,108	29,15±3,37	1,264±0,104
Метанол (7-ма доба) n=10 1-ша група	1,318±0,102 p<0,001	3,182±0,240 p<0,001	19,25±2,19 p<0,05	0,610±0,062 p<0,001
Метанол (14-та доба) n=10 2-га група	1,520±0,110 p<0,001 p ₁ >0,05	3,887±0,312 p<0,001 p ₁ >0,05	11,76±0,85 p<0,001 p ₁ <0,01	0,224±0,032 p<0,001 p ₁ <0,001
Метанол (30-та доба) n=10 3-тя група	1,264±0,109 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	3,236±0,266 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	20,72±1,48 p<0,05 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	0,305±0,029 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05
друга ділянка зорового нерва				
Контроль n=10	0,775±0,041	2,119±0,123	29,40±3,48	1,345±0,074
Метанол (7-ма доба) n=10 1-ша група	1,115±0,099 p<0,01	3,029±0,223 p<0,01	25,73±2,11 p>0,05	0,776±0,055 p<0,001
Метанол (14-та доба) n=10 2-га група	1,161±0,086 p<0,001 p ₁ >0,05	3,583±0,294 p<0,001 p ₁ >0,05	16,13±0,95 p<0,01 p ₁ <0,001	0,626±0,071 p<0,001 p ₁ >0,05
Метанол (30-та доба) n=10 3-тя група	1,079±0,090 p<0,01 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	2,785±0,195 p<0,02 p ₁ >0,05 p ₂ <0,05	28,77±2,53 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	1,116±0,102 p>0,05 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
третя ділянка зорового нерва				
Контроль, n=10	0,752±0,040	2,063±0,127	29,68±3,80	1,337±0,096
Метанол (7-ма доба) n=10 1-ша група	1,025±0,077 p<0,01	2,593±0,167 p<0,05	28,51±2,93 p>0,05	1,033±0,078 p<0,05
Метанол (14-та доба) n=10 2-га група	1,098±0,083 p<0,01 p ₁ >0,05	3,570±0,296 p<0,001 p ₁ <0,02	19,41±1,29 p<0,05 p ₁ <0,02	0,863±0,090 p<0,01 p ₁ >0,05
Метанол (30-та доба) n=10 3-тя група	0,956±0,074 p<0,05 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	2,249±0,151 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	31,59±2,73 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	1,040±0,086 p<0,05 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05

Примітка. p – ступінь достовірності відмінності показників відносно контролю;
p₁ – ступінь достовірності відмінності показників відносно даних у тварин 1-ої групи;
p₂ – ступінь достовірності відмінності показників відносно даних у тварин 2-ої групи;
n – кількість спостережень.

відбувалося на тлі зниження активності супероксиддисмутази (на 51,7, 82,3 і 75,9 %) і каталази (на 34,0, 59,7 і 28,9 %). У другій ділянці зорового нерва метанол також збільшував інтенсивність ПОЛ: рівень дієнових кон'югатів відносно контролю зростав на 7-му добу на 47,7 %, на 14-ту добу – на 53,8 %, на 30-ту добу – на 42,9 %, а кількість малонового діальдегіду збільшувалася, відповідно, на 42,9, 69,1 і 31,4 %. Активність супероксиддисмутази зменшувалася на 7-му (на 42,3 %) і чотирнадцяту (на 53,5 %) доби спостереження і не відрізнялась від контрольних показників наприкінці експерименту. Активність каталази була достовірно нижчою за контроль лише на 14-ту добу досліду (на 45,1 %).

У третій (парахіазмальній) ділянці зорового нерва через 7 діб після введення метанолу рівень дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду перевищував контрольні величини, відповідно, на 36,3 і 25,7 %, на 14-ту добу – на 46,0 і 73,0 %, а на 30-ту добу спостереження збільшеною залишалася тільки кількість дієнових кон'югатів (на 27,1 %), тоді як вміст малонового діальдегіду достовірно від контролю не відрізнявся. Зменшення активності супероксиддисмутази спостерігалось впродовж всього експерименту (на 22,7, 35,5 і 22,2 % відповідно до строків досліду), тоді як активність каталази була нижчою за контрольні показники (на 34,6 %) лише на 14-ту добу спостереження.

Отже, саме у ретробульбарному відділі зорового нерва біохімічні зміни на 7-му добу метанолової інтоксикації сприяють процесам альтерації і ексудації: інтенсифікація ПОЛ викликає ушкодження фосфоліпідів клітинних мембран [1, 2]. Отримані результати свідчать про розвиток у ретробульбарному відділі зорового нерва інтенсивного асептичного запалення, в механізмах якого важлива роль належить продуктам вільнорадикального окиснення ліпідів [4]. Відомо, що основним

джерелом пероксидних радикалів та інших активних форм кисню у вогнищі запалення зазвичай є нейтрофіли [3]. Поліморфноядерні лейкоцити є клітинами, що морфобіохімічно спеціалізуються на здійсненні захисних реакцій шляхом фагоцитозу, а також за рахунок секреції в навколклітинний простір біологічно активних речовин [12]. Водночас стимульовані нейтрофіли здатні викликати неспецифічне кисневозалежне ушкодження навколишніх тканин та клітин. У вторинній альтерації бере участь оксид азоту, який також є активним радикалом, що вивільнюється активованими макрофагами та ендотеліальними клітинами і має потужний неселективний цитотоксичний ефект [6]. Пероксидні радикали стимулюють деполімеризацію гіалуронової кислоти і збільшують проникність сполучної тканини, активують міграцію нейтрофілів у вогнище запалення, сприяють підвищенню адгезивних властивостей клітин. Надмірне накопичення ліпопероксидів призводить до дестабілізації та ушкодження клітинних мембран, а також до зруйнування ланцюгів ДНК з неспецифічним розривом її зв'язків, внаслідок чого запальний процес набуває тривалого характеру на тлі пригнічення процесів репаративної регенерації [9].

Таким чином, упродовж першого тижня метанолової інтоксикації на рівні ретробульбарного відділу зорового нерва формується хибне коло патологічного процесу з поступовим розповсюдженням медіаторів асептичного запалення у напрямку хіазми.

ВИСНОВОК. Первинно-альтераційні зміни структур зорового нерва при метаноловій інтоксикації реалізуються через інтенсифікацію процесів ліпопероксидації, що розповсюджуються від ретробульбарної ділянки зорового нерва до хіазми. Збільшення вмісту продуктів ПОЛ в тканині зорового нерва відбувається на тлі пригнічення активності супероксиддисмутази і каталази.

ЛІТЕРАТУРА

1. Архіпенко Ю.А. Редокс-сигналізація як основа підвищення резистентності клітин при адаптації до дії факторів зовнішнього середовища // Фізіол. журн. – 2000. – **46**, № 2 (додаток). – С. 110.
2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантний гомеостаз в нормі і патології. – К.: Чернобільинтеринформ, 1997. – Ч. I. – 204 с.
3. Васильева Л.С., Кузьменко В.В., Малышев В.В. Модифікація асептичного запалення

антиоксидантом ионолом // Патол. физиол. и эксперим. терап. – 1993. – № 3. – С. 41-43.

4. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 1998. – № 7. – С. 43-51.

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

6. Гоженко А.И., Котюжинский А.Л., Савицкий И.В. и др. Роль оксида азота в регуляции микроциркуляции и агрегатного состояния крови // Укр. мед. альманах. – 2000. – **3**, № 1. – С. 197-200.

7. Жабоедов Г.Д. Захворювання зорового нерва. – К., 1995. – 16 с.

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

9. Пшенникова М.Г. Защитная роль простатландинов при повреждающих воздействиях // Патол. физиол. и эксперим. терап. – 1991. – № 6. –

С. 54-58.

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

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

12. Шубич М.Г., Авдеева М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса // Арх. патол. – 1997. – **59**, № 2. – С. 3-8.

СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПРОТИВОРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ В ЗРИТЕЛЬНОМ НЕРВЕ КРОЛИКОВ С МЕТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ

М.Р. Радченко

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

Резюме

Для определения роли процессов липопероксидации и изменений активности ферментов противорадикальной защиты в патогенезе повреждения зрительного нерва при метаноловой интоксикации в работе использовано 40 половозрелых кроликов-самцов породы Шиншилла. Моделирование поражения зрительного нерва проводили путем внутривенного введения метилового спирта в дозе 1,8 г на 1 кг массы тела.

Установлено, что первично-альтерационные изменения структур зрительного нерва при метаноловой интоксикации реализуются через интенсификацию процессов липопероксидации, распространяющихся от ретробульбарной области зрительного нерва до хиазмы. Увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов в тканях зрительного нерва осуществляется на фоне угнетения активности супероксиддисмутазы и каталазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метанол, зрительный нерв, липопероксидация, супероксиддисмутаза, каталаза.

LIPID PEROXIDATION CONDITION AND ACTIVITY OF ANTIRADICAL ENZYMES IN THE OPTICAL NERVE OF RABBITS WITH METHANOL INTOXICATION

M.R. Radchenko

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS, KYIV

Summary

There were used 40 adult male rabbits, Chinchilla species to establish the role of lipoperoxidation processes and activity change of enzymes of antiradical protection in the pathogenesis of optical nerve lesion in case of methanol intoxication. Lesion modeling of optical nerve was accomplished by methanol spirit intravenous administration in the dosage – 1,8 g per 1 kg of the total body mass.

It was established that primary-alterative changes of the optical nerve structure at methanol intoxication is able to bring it out through intensification of lipoperoxidation processes, which are widespread from retrobulbar area of optical nerve to the chiasma. Increase of lipid peroxidation products in the optical nerve tissue is accomplished on the basis of superoxidismutase and catalase activity reduction.

KEY WORDS: methanol, optical nerve, lipoperoxidation, superoxidismutase, catalase.

Отримано 07.04.2003 р.

Адреса для листування: М.Р. Радченко, а/с № 1, Київ-35, 03035, Україна.

УДК 577.115.3:577.112.856: 616.517

ВИВЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ
ЛІПОПРОТЕЇНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ПСОРІАЗІЮ.В. Андрашко, В.Г. Коляденко, Т.С. Брюзгіна, Г.Г. Суліма
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпопротеїнів низької (ЛПНЩ) і високої щільності (ЛПВЩ) сироватки крові при псоріазі. Встановлено, що псоріаз призводить до односпрямованих змін рівня есенціальних жирних кислот (лінолевої й арахідонової) як у ЛПНЩ, так і в ЛПВЩ, що проявляється дефіцитом поліненасичених жирних кислот.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, жирні кислоти, сироватка крові, перекисне окиснення ліпідів, ліпопротеїди, псоріаз.

ВСТУП. Проблема псоріазу є однією з актуальних у сучасній дерматології, оскільки ця патологія посідає одне з провідних місць у структурі шкірних хвороб. У складному та недостатньо вивченому патогенезі псоріазу велика увага приділяється порушенню обміну речовин, його впливу на біомембранні процеси та енергетичний обмін на різних стадіях метаболізму ліпідів.

Відомо, що основною транспортною формою ліпідів у крові є ліпопротеїни (ЛП), що являють собою білковоліпідні комплекси і поділяються, залежно від хімічного складу і фізико-хімічних властивостей, на основні класи: ЛП низької та високої щільності [5]. Однією з найбільш імовірних причин, що викликають порушення фізико-хімічних властивостей ЛП, є процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), де головним субстратом є переважно поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) [1, 2].

Оскільки вищі жирні кислоти (ЖК), що є структурними елементами біологічних мембран, одночасно відіграють роль основних субстратів процесу вільнорадикального окиснення, то якісні і кількісні зміни останніх можуть бути використані як інформативний тест у клінічній і лабораторній діагностиці.

Метою наших досліджень було вивчення жирнокислотного складу ліпопротеїнів низької (ЛПНЩ) та високої (ЛПВЩ) щільності сироватки крові у хворих на псоріаз.

© Ю.В. Андрашко – к.мед.н., В.Г. Коляденко – д.мед.н., проф., Т.С. Брюзгіна – к.техн.н., Г.Г. Суліма – к.мед.н., 2003.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 56 хворих віком 18-72 роки із різними клінічними стадіями, типами та формами псоріазу і 15 осіб, які становили контрольну групу (практично здорові донори). Діагноз встановлювали згідно з анамнестичними даними, даними клінічного, лабораторного та інструментального обстежень.

Об'єктом наших досліджень була сироватка крові хворих на псоріаз, з якої виділяли ЛПНЩ і ЛПВЩ за [4]. Забір матеріалу проводили вранці натще при госпіталізації хворого у клініку до початку лікування.

Підготовку біологічного матеріалу, який отримували в умовах клініки, для виділення ліпопротеїнів та газохроматографічний аналіз здійснювали згідно з [3]. У спектрі ЖК ліпідів було ідентифіковано 6 найбільш інформативних: $C_{16:0}$ – пальмітинова, $C_{18:0}$ – стеаринова, $C_{18:1}$ – олеїнова, $C_{18:2}$ – лінолева, $C_{18:3}$ – ліноленова, $C_{20:4}$ – арахідонова. Вони склали суму ПНЖК. Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання піків стандартних ЖК. Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів проводили методом нормування площин піків метилових похідних ЖК та визначення їх складу у відсотках.

Визначали суму насичених, ненасичених ЖК та ПНЖК. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислот-

ного складу ЛПНЩ і ЛПВЩ хворих на псоріаз наведено в таблиці 1.

Представлені дані свідчать про те, що показники жирнокислотного складу ЛПНЩ і ЛПВЩ сироватки крові в контролю відрізнялись рівнем есенціальних ЖК (лінолевої й арахідонової), що, мабуть, зумовлено фізіологічно.

При порівнюванні ліпідних показників ЛПНЩ хворих на псоріаз із контролем було встановлено достовірну відмінність співвідношення насичених і ненасичених ЖК. Так, для ЛПНЩ при псоріазі вірогідне збільшення насиченості ліпідного комплексу зумовлене наявністю міристинової ЖК, що може свідчити про порушення в ендокринній системі хворих на псоріаз.

Достовірно знижений рівень пальмітинової і стеаринової ЖК, мабуть, пов'язаний із деструкцією лецитинової фракції фосфоліпідів сироватки крові, викликану активацією процесу ПОЛ.

Суттєва відмінність від контролю у ЛПНЩ полягає в рівні ПНЖК при захворюванні на псоріаз. Так, достовірно знижене утримання лінолевої й арахідонової ЖК може свідчити про активацію процесу ПОЛ, що призводить до дефіциту есенціальних ЖК.

При зіставленні ліпідних показників ЛПВЩ хворих на псоріаз із контролем також було

виявлено достовірну відмінність у співвідношенні насичених і ненасичених ЖК. Так, для ЛПВЩ при псоріазі вірогідне збільшення насиченості ліпідного комплексу теж зумовлене наявністю міристинової ЖК, що свідчить про порушення в ендокринній системі хворих на псоріаз.

Достовірне зниження утримання пальмітинової і стеаринової ЖК також може зумовлюватись деструкцією лецитинової фракції фосфоліпідів крові, викликану активацією процесу ПОЛ.

Для ліпідів при захворюванні на псоріаз відмінність від контролю полягає у рівні ПНЖК. Знижене утримання лінолевої й арахідонової ЖК може свідчити про активацію процесу ПОЛ, яка призводить до дефіциту ПНЖК за рахунок есенціальних ЖК.

ВИСНОВКИ. 1. При псоріазі активація процесу ПОЛ призводить до порушень в ендокринній системі хворих, що спричиняє зміни в ліпідному комплексі крові.

2. Ці порушення пов'язані з односпрямованими змінами жирнокислотного складу ЛПНЩ і ЛПВЩ, зокрема з дефіцитом есенціальних ЖК, що зумовлюють вірогідно знижений рівень ПНЖК.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад (%) ліпідів ЛП сироватки крові при псоріазі

Назва ЖК	Контроль ЛПНЩ сироватки крові	M=29 ЛПНЩ сироватки крові	Контроль ЛПВЩ сироватки крові	M=29 ЛПВЩ сироватки крові
C _{14:0}	Сліди	58,2±2,0	Сліди	60,4±2,5
C _{16:0}	29,9±3,3	17,7±0,6*	28,2±2,0	20,1±1,1
C _{18:0}	12,7±0,7	3,3±0,3*	11,5±1,2	3,4±0,4*
C _{18:1}	17,2±0,7	6,7±0,5*	17,7±0,6	6,2±0,5*
C _{18:2}	30,7±6,7	11,9±0,7*	25,4±3,8	9,4±0,7*
C _{20:4}	6,1±1,4	2,1±0,3*	3,9±0,5	0,5±0,1*
C _{22:6}	3,4±0,3	–	13,4±0,8	–
Σ нас. ЖК	42,6±4,0	79,2±1,8*	39,7±3,1	83,9±1,6*
Σ ненас. ЖК	57,4±4,0	20,7±1,8*	60,3±3,1	16,1±1,6*
Σ ПНЖК	40,3±5,2	14,0±1,0*	32,7±6,2	9,9±1,5*

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

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-восстановительный гомеостаз в норме и при патологии. – К: Наук. думка, 1997. – Ч. 1. – 202 с.
 2. Бурлакова Е.Б., Крамаков С.А., Храпова Н.Г. Роль токоферола в перекисном окислении липидов биомембраны // Вопр. мед. хим. – 1998. – № 2. – С. 137-167.
 3. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни

сердца // Укр. кардиол. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
 4. Методика выделения липопротеидов // В кн.: Хемилюменисцентный анализ в профилактической и клинической медицине (Метод. рекомендации). – М, 1985. – 26 с.
 5. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Свободнорадикальная модификация липопротеинов крови и атеросклероз // Биол. мембраны. – 1993. – № 4. – С. 341-381.

ИЗУЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ПСОРИАЗЕ

Ю.В. Андрашко, В.Г. Коляденко, Т.С. Брюзгина, А.Г.Сулима
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Представлены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава липопротеинов низкой (ЛПНП) и высокой плотности (ЛПВП) сыворотки крови при псориазе. Установлено, что псориаз приводит к однонаправленным изменениям уровня эссенциальных жирных кислот (линолевой и арахидоновой) как в ЛПНП, так и в ЛПВП сыворотки больных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, жирные кислоты, сыворотка крови, перекисное окисление липидов, липопротеиды, псориаз.

STUDYING FATTY-ACID COMPOSITION LIPOPROTEINS IN BLOOD SERUM LIPIDS IN PATIENTS WITH PSORIASIS

Yu.V. Andrashko, V.G. Kolyadenko, T.S. Bryuzgina, H.H. Sulima
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET'S, KYIV

Summary

The results of the gas-chromatographic analysis of fatty-acid composition of lipoproteins with low and high density in blood serum in patients with psoriasis are represented.

The characteristic metabolic changes of essential fatty acids were revealed in the lipoproteins in blood serum in patients with psoriasis: the reduction of polyunsaturated fatty acids level in high density lipoproteins (HDL) and low density lipoproteins (LDL), against a background of intensified lipid peroxidation.

KEY WORDS: lipids, fatty acids, blood serum, lipid peroxidation, lipoproteins, psoriasis.

Отримано 13.11.2002 р.

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

ВИВЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ЕСЕНЦІАЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ ПОТУ ЛІЦЕЇСТІВ У ПЕРІОД НАВЧАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ

С.С. Соловська

НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ВІЙСЬКОВОЇ МЕДИЦИНИ
ЗБРОЙНИХ СИЛ УКРАЇНИ, ІРПІНЬ

Запропоновано газохроматографічне визначення есенціальних жирних кислот (ЖК) ліпідів поту вихованців військового ліцею за період навчального процесу (літо-зима). Встановлено зміну метаболізму лінолевої та арахідонової ЖК у ліпідах поту ліцеїстів незалежно від пори року та достовірні зміни рівня поліненасичених ЖК ліпідів поту порівняно з нормою. Виявлені зміни в жирнокислотній формулі ліпідів поту можуть бути використані для визначення рівня дезадаптації ліцеїстів у результаті впливу навчального процесу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, жирні кислоти, перекисне окиснення ліпідів, піт, адаптація

ВСТУП. На даний час для визначення “рівня здоров’я” індивідуума, а також різноманітних груп і популяцій, багатьма дослідниками використовується поняття “теорія” адаптації, відповідно до якої здоров’я оцінюють за ступенем адаптації організму до умов навколишнього середовища. Хвороба, відповідно, розглядається як наслідок виснаження та порушення адаптаційних механізмів. Такий підхід визначає необхідність виявлення порушень адаптаційних механізмів [2, 4]. Сучасними дослідженнями сформовано уявлення про адаптаційну функцію ліпідів та їх значення в розвитку патологічних процесів. Особливо важливим є те, що ліпіди клітинних мембран та немембранні ліпіди виконують адаптаційну функцію в організмі живих істот [1, 3].

Упродовж останніх років учені багатьох країн усе більшу увагу приділяють вивченню різноманітних середовищ людини, намагаючись використовувати для досліджень їх фізико-хімічну будову. Як об’єкти вони застосовують неінвазивні об’єкти: непошкоджену тканину (шкіри, слизових оболонок тощо), сечу, піт, слізну рідину, видихуване повітря тощо [7].

Біохімічні показники неінвазивних об’єктів, як встановлено численними дослідженнями, можуть суттєво змінюватися, причому досить специфічно, залежно від виду патологічного процесу, стадії захворювання, фізіологічного

стану організму. При цьому доступність матеріалу для дослідження дає можливість простежити зміни в динаміці, що дозволяє визначити стратегію і тактику лікувальних та профілактичних заходів, своєчасно вносити в них відповідну корекцію [5].

Метою наших досліджень було вивчення порушень метаболізму есенціальних ЖК ліпідів поту ліцеїстів за період навчального процесу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Оцінку жирнокислотного складу ліпідів поту ліцеїстів за період літо-зима здійснювали методом газорідинної хроматографії (ГЖХ). Було обстежено 36 підлітків чоловічої статі віком 15-16 років та 19 учнів загальноосвітньої школи того ж віку. Останні становили контрольну групу. Об’єктом дослідження був новий неінвазивний об’єкт – піт. Забір матеріалу проводили вранці натще. Підготовку біологічного матеріалу – поту для виділення ліпідів та газохроматографічний аналіз здійснювали за методикою [6].

Визначали суму поліненасичених ЖК, а також вміст лінолевої та арахідонової ЖК. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу ліпідів поту ліцеїстів за період літо-зима наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Показники порушення метаболізму есенціальних ЖК ліпідів поту ($M \pm m$)

Показники (%)	Зима			Літо		
	I група	II група	Контроль	I група	II група	Контроль
Σ ПНЖК	25,1 \pm 1,3	17,5 \pm 1,5	21,3 \pm 1,1	45,6 \pm 1,5*	27,3 \pm 1,6 *	8,5 \pm 1,0
$C_{18:2}$	3,5 \pm 0,3*	4,7 \pm 0,5*	16,2 \pm 1,0	4,1 \pm 0,5	4,3 \pm 0,5	3,9 \pm 0,5
$C_{20:4}$	21,2 \pm 1,5*	12,4 \pm 0,7*	4,5 \pm 0,5	38,4 \pm 1,0*	20,5 \pm 1,1*	4,0 \pm 0,3
$K_1 = \Sigma$ ПНЖК / $C_{18:2}$	7,0	4,0	1,3	10	6,0	2,2
$K_2 = C_{20:4} / C_{18:2}$	6,0	2,6	0,3	9,0	5,0	1,0
$K_3 = \Sigma$ ПНЖК / $C_{20:4}$	1,2	1,4	5,0	1,2	1,3	2,0

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

Як видно з таблиці 1, всіх обстежених було поділено на дві групи (зима-літо) залежно від рівня ПНЖК. Причому відмінність у рівні ПНЖК зумовлювалась переважно вмістом арахідонової ЖК.

При порівнянні результатів газохроматографічного аналізу ліпідів поту ліцеїстів за період літо-зима можна відмітити достовірну зміну рівня ПНЖК тільки влітку.

При зіставленні отриманих даних з відповідним контролем було виявлено, що зміна метаболізму есенціальних ЖК влітку відбувається переважно за рахунок арахідонової ЖК.

При порівнянні ліпідних показників поту ліцеїстів взимку виявлено зміну метаболізму есенціальних ЖК, яка спостерігається за рахунок як арахідонової, так і лінолевої ЖК.

Для кількісної оцінки порушення метаболізму есенціальних ЖК ліпідів поту ми визначили такі коефіцієнти:

$$K_1 = \Sigma \text{ ПНЖК} / C_{18:2}$$

де K_1 характеризує інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ);

$$K_2 = C_{20:4} / C_{18:2}$$

де K_2 характеризує порушення метаболізму есенціальних ЖК;

$$K_3 = \Sigma \text{ ПНЖК} / C_{20:4}$$

де K_3 характеризує етап утворення біорегуляторів-ейкозаноїдів.

Як видно з таблиці 1, коефіцієнти контрольних груп (зима і літо) достовірно відрізняються між собою, причому ближче до зими зміна рівня есенціальних ЖК (ПНЖК) спостерігається за рахунок лінолевої ЖК.

Влітку в ліцеїстів I і II груп у ліпідах поту відбувається достовірна зміна метаболізму есенціальних ЖК, про що свідчать виявлені коефіцієнти.

Так, інтенсивність процесу ПОЛ, яку характеризує коефіцієнт K_1 , зростає, порівняно з контролем у II групі – в 3 рази, а в I – в 5 разів.

Зміна метаболізму есенціальних ЖК ближче до літа наочно демонструється різким підвищенням K_2 : для II групи – в 5 разів, а для I – в 9 разів.

Оскільки влітку в ліпідному комплексі поту ліцеїстів у вмісті лінолевої ЖК немає відмінності, порівняно з контролем, то K_3 для I і II груп однаковий, а відмінність із контролем – у 2 рази.

Взимку коефіцієнти, що характеризують порушення ліпідного метаболізму в поті ліцеїстів, також підвищені, порівняно з контролем:

K_1 для II групи – в 3 рази, для I – в 5 разів;

K_2 для II групи – в 10 разів, для I – у 20 разів;

K_3 для I і II груп немає відмінностей, але достовірно знижений у 4 рази, порівняно з контролем.

ВИСНОВКИ. 1. У період навчального процесу має місце порушення метаболізму есенціальних ЖК ліпідів поту незалежно від пори року, що може свідчити про значний вплив навчального навантаження на ліпідний обмін в організмі.

2. При зміні пори року (літо і зима) спостерігається зміна коефіцієнтів контрольних груп, що характеризують метаболізм есенціальних ЖК. Це може вказувати на функціональну значущість адаптаційно-компенсаторного механізму.

3. У вихованців ліцею в період навчального процесу має місце зміна ліпідного метаболізму в організмі, що може свідчити про розвиток дезадаптаційного синдрому та стати однією з причин погіршення здоров'я.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 285 с.
2. Баевский Р.М. Оценка и классификация уровня здоровья с точки зрения теории адаптации // Вестник АМН СССР. – 1989. – № 8. – С. 73-78.
3. Гурин В.Н. Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке. – Минск: Беларусь, 1986. – 191 с.
4. Ильин А.Г., Агапова Л.А. Функциональные возможности организма и их значение в оценке состояния здоровья подростков // Гиг. и сан. – 2000. – № 5. – С. 43-46.
5. Лопухин Ю.М., Парфенов А.С. Неинвазивная диагностика – настоящее и перспективы // Тез. докл. 2-го Симпозиума “Неинвазивные методы диагностики”. – М., 1995. – С. 11-12.
6. Коляденко В.Г., Степаненко В.П., Брюзгина Т.С. и др. Газохроматографическое определение спектра жирных кислот липидов пота // Клиническая лабораторная диагностика. – 1993. – № 6. – С. 9-10.
7. Чикин С.Я. 2-й Симпозиум по неинвазивной диагностике // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996. – № 4. – С. 28-32.

ИЗУЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЛИПИДОВ ПОТА ЛИЦЕИСТОВ В ПЕРИОД УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА

С.С. Соловская

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЫ
ВООРУЖЕННЫХ СИЛ УКРАИНЫ, ИРПЕНЬ

Резюме

Предлагается газохроматографическое определение эссенциальных жирных кислот (ЖК) липидов пота воспитанников военного лицея в период учебного процесса (лето-зима). Установлено изменение метаболизма линолевой и арахидоновой ЖК в липидах пота лицеистов независимо от времени года и достоверные изменения уровня полиненасыщенных ЖК липидов пота по сравнению с нормой. Обнаруженные изменения в жирнокислотной формуле липидов пота могут быть использованы для определения уровня дезадаптации лицеистов в результате влияния учебного процесса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **липиды, жирные кислоты, перекисное окисление липидов, пот, адаптация.**

STUDYING OF VIOLATIONS OF ESSENTIAL FAT ACIDS METABOLISM OF LYCEUM STUDENTS' SWEAT LIPIDS DURING EDUCATIONAL PROCESS

S.S. Solovska

SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF MILITARY MEDICINE OF UKRAINIAN ARMED FORCES, IRPEN

Summary

Gas-chromatographic definition of essential fat acids of lyceum students' sweat lipids during educational process (summer-winter) is proposed. Changes of metabolism of linoleum and arahidonium acids are established in lipids of lyceum students' sweat independently of a season. The estimated changes of essential acids level in lyceum students' sweat lipids in the result of educational process can become one of the reasons of health deterioration.

KEY WORDS: **lipids, fat acids, lipids peroxidation, sweat, adaptation.**

Отримано 24.12.2002 р.

Адреса для листування: С.С. Соловська, вул. Крейсера Аврори, 1, кв. 21, Київ, 03191, Україна.

ОЦІНКА ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКСУ СИРОВАТКИ КРОВІ ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ СТРЕСУ

В.І. Варус, О.В. Буднік, Т.С. Брюзгіна¹

НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ВІЙСЬКОВОЇ МЕДИЦИНИ ЗС УКРАЇНИ, ІРПІНЬ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ¹

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові військовослужбовців, які зазнали дії стресу. Встановлено достовірне підвищення рівня поліненасичених жирних кислот ліпідного комплексу сироватки крові за рахунок зміни вмісту лінолевої, ліноленової, арахідонової жирних кислот. Виявлені зміни в жирнокислотній формулі ліпідів сироватки крові можуть бути причиною погіршення здоров'я військовослужбовців.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, жирні кислоти, сироватка крові, стрес, перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. В останні роки отримано дані, які дозволяють усвідомити роль процесів вільно-радикального окиснення в розвитку адаптаційних процесів. Встановлено, що в механізмі впливу на організм шкідливих факторів середовища та умов життєдіяльності (інфекцій, фізичного перенапруження, охолодження, фіброгенного пилу, прооксидних токсичних речовин чи хімічних сполук, що окиснюються на цитохромі Р-450, іонізуючого випромінювання, ультрафіолетової радіації, гіпоксії, емоційного стресу, інформаційного перевантаження тощо) існує загальний патогенетичний ланцюг – надлишкова продукція вільних радикалів. Різними шляхами всі перелічені фактори призводять до одного і того ж метаболічного порушення – утворення підвищеної кількості активних форм кисню й інших вільних радикалів [1, 4].

Відомо, що ліпіди відіграють важливу роль у розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій організму при дії надзвичайних подразників. При стресі найбільш очевидна їхня участь у пластичних, енергетичних і регуляторних процесах [6]. Доведено також, що основним субстратом процесу ліпідної пероксидації є переважно поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), які легко піддаються окисному впливу. Вони втрачають свої первісні властивості й можуть викликати в організмі різні порушення обміну [2, 3].

© В.І. Варус – д.мед.н., проф., О.В. Буднік, Т.С. Брюзгіна – к.техн.н., 2003.

Висока метаболічна активність ненасичених жирних кислот (ЖК) ліпідів біологічних мембран визначає важливість вивчення цього класу ліпідів.

Метою наших досліджень було оцінити ліпідний комплекс сироватки крові військовослужбовців методом газорідинної хроматографії (ГРХ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 105 військовослужбовців, яких поділили на дві групи. I – військові, які служили в Косово, II – 87 військових віком 25-40 років, які служили в Сьєрра-Леоне. Для контролю використовували дані 25 практично здорових осіб тієї ж вікової групи.

Підготовку проб і газохроматографічний аналіз здійснювали згідно з методикою [5]. У спектрі ЖК ліпідів сироватки крові було ідентифіковано 7 найбільш інформативних ЖК: С_{16:0} – пальмітинова, С_{17:0} – маргарінова, С_{18:0} – стеаринова, С_{18:1} – олеїнова, С_{18:2} – лінолева, С_{18:3} – ліноленова, С_{20:4} – арахідонова.

Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання стандартів ЖК. Кількісну оцінку ЖК ліпідів сироватки проводили методом нормування площ піків метильованих похідних ЖК і визначення їхнього вмісту у відсотках.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові військовослужбовців I і II груп наведено в таблиці 1.

З таблиці видно, що в I групі військовослужбовців зміни жирнокислотного складу в сироватці крові полягають у зниженні рівня

пальмітинової і стеаринової ЖК. Достовірно зменшений вміст олеїнової ЖК компенсується збільшеним вмістом лінолевої та арахідонової ЖК, що зумовлює вірогідно підвищений рівень ПНЖК. Змінюється співвідношення насичених та ненасичених ЖК, і ліпідний комплекс сироватки крові характеризується достовірно підвищеною ненасиченістю.

Таблиця 1 – Оцінка ліпідного комплексу сироватки крові військовослужбовців (у %)

Назва ЖК	До реабілітації		Сироватка, контроль	Після реабілітації	
	I група	II група		I група	II група
C _{16:0} пальмітинова	35,1±2,0*	42,8±2,3	41,9±0,9	43,5±2,5	32,30±1,8*
C _{17:0} маргарінова	-	7,9±0,8	-	-	0,3±0,01
C _{18:0} стеаринова	11,5±0,7	11,8±0,8	15,1±1,1	12,9±0,9	10,3±0,8
C _{18:1} олеїнова	16,9±1,0*	17,8±1,2*	24,2±0,6	16,8±1,0	13,5±1,3*
C _{18:2} лінолева	19,8±1,5	10,0±0,8*	16,0±1,4	20,9±1,0	17,5±1,1
C _{18:3} ліноленова	0,60±0,05	2,2±0,3	-	-	-
C _{20:4} арахідонова	16,1±0,9*	7,5±0,7*	2,8±0,3	5,9±0,5	27,1±1,5*
У нас. ЖК	46,6±1,6*	62,5±1,8	57,0±1,3	56,4±1,5	42,9±1,6*
У ненас. ЖК	53,4±1,6*	37,5±1,8	43,0±1,3	43,6±1,5	58,1±1,6*
У ПНЖК	36,5±1,3*	19,7±1,5	18,8±1,4	26,8±1,3*	44,6±1,2*

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

Такий стан ліпідного комплексу сироватки крові може свідчити про напруження в адаптаційно-компенсаторного механізму і бути причиною погіршення здоров'я.

У II групі військовослужбовців зміни жирнокислотного складу ліпідів сироватки крові, порівняно з контролем, характеризуються зниженим вмістом стеаринової, олеїнової і лінолевої ЖК на фоні підвищеного вмісту арахідонової ЖК. Однак у співвідношенні насичених і ненасичених ЖК, а також у рівні ПНЖК немає достовірних змін.

Наявність маргарінової ЖК у сироватці крові у II групі військовослужбовців може бути прогностичним критерієм і свідчити про наявність в організмі нейроінфекції.

Таким чином, зміна жирнокислотної формули ліпідів сироватки крові у військовослужбовців II групи може бути фактором ризику й зумовлювати погіршення здоров'я.

Після реабілітації у військовослужбовців I групи спостерігається достовірна нормаліза-

ція жирнокислотного складу ліпідів сироватки, за винятком рівня ПНЖК. Вірогідно підвищений вміст есенціальних ЖК (лінолевої та арахідонової) може бути фактором ризику й означати недостатню реабілітацію чи її недостатню ефективність.

Після реабілітації у військовослужбовців II групи спостерігається достовірна перебудова жирнокислотної формули ліпідів сироватки крові, відмінна від контролю. Так, різко зростає вміст арахідонової ЖК, що зумовлює підвищення рівня ПНЖК і зміну ненасиченості ліпідного комплексу сироватки крові. Такий стан ліпідного комплексу сироватки крові в II групі військовослужбовців також може свідчити про недостатню реабілітацію чи її недостатню ефективність.

ВИСНОВОК. Служба військовослужбовців у стресових умовах може викликати суттєве погіршення здоров'я в результаті зміни ліпідного обміну, що призводить до порушення метаболізму ліпідів сироватки крові.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 285 с.
2. Барабой В.А., Сутковой Г.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. мембраны. – 1998. – № 2. – С. 137-167.

4. Величковский Б.М. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды // Вестник Российской АМН. – 2001. – № 6. – С. 45-52.

5. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М. Газо-хроматографический метод определения липидных показателей при ишемической болезни сердца // Укр. кардиол. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.

6. Гурич В.Н., Семенец И.Н. Изменения липидного состава липопротеидов плазмы крови при остром эмоциональном стрессе // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 1988. – № 4. – С. 57-59.

ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА СЫВОРОТКИ КРОВИ ВОЕННОСЛУЖАЩИХ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ СТРЕССА

В.И. Варус, Е.В. Будник, Т.С. Брюзгина¹

*НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЫ ВС УКРАИНЫ, ИРПЕНЬ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ¹*

Резюме

Приводятся результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава липидов сыворотки крови военнослужащих, подвергшихся воздействию стресса. Установлено достоверное повышение уровня полиненасыщенных жирных кислот липидного комплекса сыворотки крови за счет изменения содержания линолевой, линоленовой, арахидоновой жирных кислот. Обнаруженные изменения в жирнокислотной формуле липидов сыворотки крови могут служить причиной ухудшения здоровья военнослужащих.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: жирные кислоты, липиды, сыворотка крови, стресс, перекисное окисление липидов.

ASSESSMENT OF BLOOD SERUM LIPID COMPLEX OF SERVICEMEN WHO HAVE BEEN EXPOSED TO STRESS SITUATIONS

V.I. Varus, O.V. Budnik, T.S. Bryuzgina¹

*SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF PROBLEMS OF MILITARY MEDICINE, IRPEN
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETCH, KYEV¹*

Summary

The results of the gas-chromatographic analysis of fatty-acid composition in blood serum lipids of servicemen who have been exposed to stress situations are represented. It was revealed an increase in the level of polyunsaturated fatty acids in blood serum of lipid complex as a result of changes of linoleic, linolenic and arachidonic fatty acids content against a background of activated lipid peroxidation. These changes can be the causes of servicemen's health worsening.

KEY WORDS: fatty acids, lipids, blood serum, stress situations, lipid peroxidation.

Отримано 13.11.2002 р.

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

ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ, ОТРИМАНИХ З ЛИСТЯ ЯБЛУНІ ЛІСОВОЇ ТА ГРУШІ ЗВИЧАЙНОЇ

О.М. Новосел, В.С. Кисличенко, В.А. Ханін
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

За допомогою рідинного хроматографічного фракціонування отримано ліпофільні комплекси з листя яблуні лісової та груші звичайної, визначено їх якісний склад та встановлено кількісний вміст (хлорофілів, каротиноїдів, вільних жирних кислот), а також визначено хімічні числові показники: кислотне число, число омилення, ефірне та йодне числа. Паперова та тонкошарова хроматографія вперше виявила в листі обох досліджуваних видів токофероли, вітамін К₁, β-ситостерин та лецитин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: виділення, ідентифікація, ліпофільні сполуки, кількісне визначення, хімічні числові показники, яблуня лісова, груша звичайна.

ВСТУП. Груша звичайна (груша лісова) – *Pyrus communis* L. та яблуня лісова – *Malus silvestris* Mill. (L.) належать до родини розових – Rosaceae. В народній медицині плоди яблуні лісової використовуються для лікування недокрів'я, нормалізації діяльності шлунково-кишкового тракту, запобігання закрепів, підвищення апетиту; квітки та листя – для лікування злоякісних новоутворень [1, 8]. Плоди груші застосовують як тонізувальний, протизапальний, болетамувальний, антибактеріальний, в'яжучий засіб при шлунково-кишкових розладах, захворюваннях сечостатевої системи, в дієтичному харчуванні хворих на цукровий діабет, а також для лікування хворих на рак молочної залози та легенів [1, 8].

За технологічною схемою одержання рослинних екстрактів першим етапом є виділення хлорофілів, восків, смол та інших ліпофільних сполук із сировини. Тому об'єктом нашого хімічного дослідження були ліпофільні фракції, отримані з листя яблуні лісової та груші звичайної.

Рослинну сировину заготовляли у серпні 2001 р. в Харківській області.

Відомо, що ліпофільні фракції містять насичені й ненасичені жирні кислоти, каротиноїди, токофероли, філохінон, стерини, фосфоліпіди, хлорофіли, поліїни, порфірини та інші речовини, які належать до основних продуктів біосинтезу рослин і, залежно від складу та структури окремих компонентів, мають різного роду біологічну активність, що зумовлює їх подальше використання як фармакологічних засобів [5]. До препаратів такого складу відносяться: антистафілококовий препарат "Хлорофіліпт", протизапальні

© О.М. Новосел, В.С. Кисличенко – д.фарм.н., В.А. Ханін, 2003.

та антимікробні мазі "Календула" і "Вундехіл", ранозагоювальну мазь "Каратолін", олію обліпихову та шипшинову, противиразковий полівітамінний засіб "Тиквеол", антисклеротичний препарат "Лінетол", ефективний гепатопротектор "Есенціале" [9, 13].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ліпофільні фракції з листя досліджуваних рослин отримували шляхом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслета [10]. Хлороформні екстракти випарювали на ротаційному випарювачі до видалення екстрагенту та визначали відсотковий вміст одержаних сумарних ліпофільних комплексів. У результаті проведених досліджень вихід ліпофільного екстракту з листя яблуні лісової склав 6,9 %, а з листя груші звичайної – 2,93 %.

З метою стандартизації отриманих ліпофільних фракцій нами були вивчені їх органолептичні та фізико-хімічні показники.

Ліпофільний екстракт з листя яблуні лісової являє собою порошкоподібну масу чорно-зеленого кольору зі специфічним запахом яблук. Ліпофільна фракція груші – це густа маса темно-зеленого кольору зі специфічним рослинним запахом. Обидва ліпофільних екстракти не розчиняються у воді, добре розчиняються у хлороформі, гексані, петролейному ефірі, погано розчиняються у 96 % етанолі.

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. Схеми тонкошарової хроматографії хлороформних витяжок з листя яблуні лісової та груші звичайної 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 (рис. 1(A)) та 1-5 (рис. 1(Б)) були віднесені нами до хлорофілів.

Речовини 10-11 (рис. 1(A)), які 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 кольору, яке з часом зникало [6, 11].

Плями 6, 7, 12 (рис. 1(A)), які мали жовто-зеленуватий відтінок на хроматограмі, за даними газо-рідинної хроматографії, було віднесено до речовин вуглеводневої природи групи ацетилену – полінів, 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 1-5 (рис. 1(A)) та 6-8 (рис. 1(Б)) були віднесені нами до каротиноїдів. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограми обробляли 2 % розчином *n*-диметиламінобензальдегіду у суміші етанолу та хлористоводневої кислоти. Після обробки хроматограми висушували при температурі 80-90 °С протягом 5-7 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювалися в рожево-фіолетовий колір [3, 11].

Встановлення наявності токоферолів проводили за допомогою якісної реакції. Для цього по 0,05 г ліпофільних фракцій розчиняли в 1 мл хлороформу у пробірках з притертими пробками та додавали 2 мл 0,2 % розчину кислоти фосфорномолібденової у льодяній оцтовій кислоті. Спостерігали інтенсивне смарагдово-

зелене забарвлення, яке підтверджувало присутність токоферолів у досліджуваних ліпофільних фракціях [2, 7].

Визначення вмісту вітаміну K_1 проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" у системі розчинників "бензол-петролейний ефір" (1:1). Плями вітаміну K_1 визначали за жовто-зеленою флуоресценцією в УФ-світлі [2].

За допомогою методу тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" у системі розчинників "хлороформ-метанол-оцтова кислота-вода" (25:15:4:2) з достовірними зразками та після обробки хроматограм хромогенними реактивами було встановлено наявність лецитину та β -ситестерину у ліпофільних фракціях з листя яблуні лісової та груші звичайної [5].

Визначення числових показників ліпофільних фракцій, отриманих з листя яблуні лісової та груші звичайної, проводили за допомогою методик [4]. Результати наведено у таблиці 1.

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 у тих же умовах (табл. 1) [12].

Кількісний вміст каротиноїдів визначали на спектрофотометрі СФ-46 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 (табл. 1) [3, 12].

Також нами було проведено визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних жирних кислот в ліпофільних екстрактах з листя яблуні лісової та груші звичайної. Метиллові

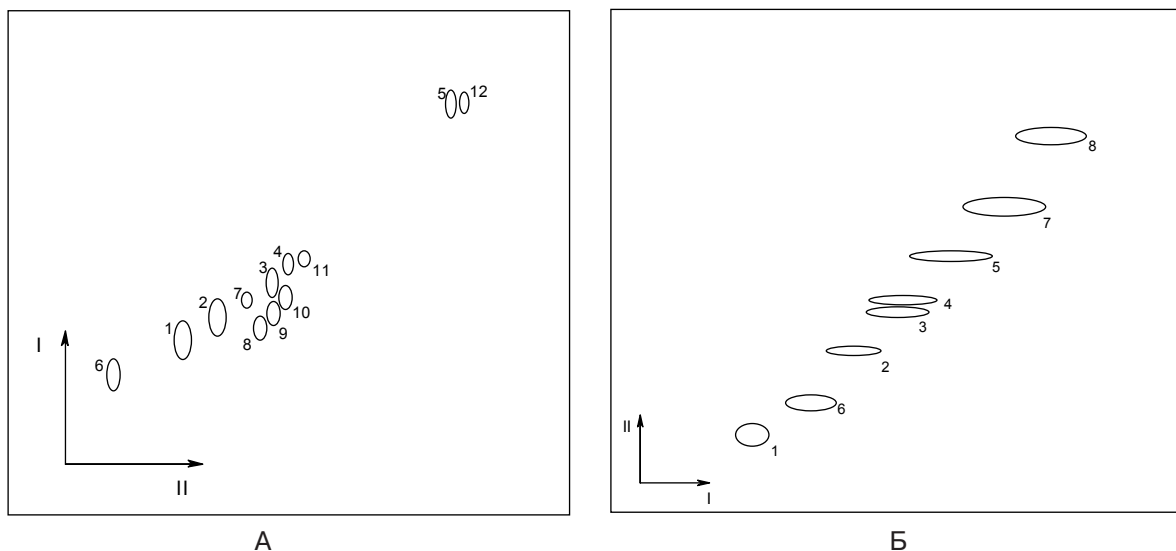


Рис. 1. Схеми тонкошарових хроматографій хлороформних фракцій з листя яблуні лісової (А) та груші звичайної (Б).

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 застосовували діетиленглікольсук-цинат у дозі 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 (табл. 2) [5].

Як видно з таблиці 2, у кількісному відношенні серед насичених жирних кислот в обох досліджуваних ліпофільних фракціях переважають пальмітинова і стеаринова, а серед ненасичених – ліноленова, ліолева та олеїнова. У ліпофільному екстракті з листя яблуні лісової не виявлено ерукової та докозадієнової жирних кислот, а в ліпофільній фракції з листя груші – пентадеканової.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Усі класи природних сполук, що були виявлені у ліпофільних фракціях з листя яблуні лісової та груші зви-

чайної, визначали хроматографічними та інструментальними методами. Значний вміст ліноленової кислоти, а також ліолевої та олеїнової, може бути використаний при плануванні фармакологічного скринінгу та виборі лікарських форм, оскільки наявність цих кислот у лікарських засобах підсилює їх протизапальні та ранозагоювальні властивості. Наявність поліїнів, високий вміст хлорофілів та їх якісний склад (хлорофіли a, b, c, d, e) в ліпофільній фракції з листя груші звичайної можуть зумовлювати антимікробну дію, що буде використано при подальшому фармакологічному вивченні. Вивчення вітамінного складу досліджуваних ліпофільних фракцій показало, що, крім каротиноїдів, вони також містять жиророзчинні токоферол та філохінон. Це дає підставу прогнозувати фармакологічні властивості майбутнього лікарського засобу.

ВИСНОВКИ. 1. З листя яблуні лісової та груші звичайної отримано ліпофільну фракцію, встановлено її вихід і органолептичні та фізичні показники.

2. Уперше в одержаних ліпофільних екстрактах виявлено такі класи природних сполук вуглеводневої природи, як порфірини та поліїни.

3. За допомогою якісних реакцій та хроматографічних методів аналізу в ліпофільних фракціях з досліджуваних видів сировини виявлено вітамін K₁, токофероли, лецитин та β-ситостерин.

Таблиця 1 – Числові показники ліпофільних фракцій з листя яблуні лісової та груші звичайної

Числові показники	Вміст біологічно активних речовин, числовий показник у ліпофільних фракціях	
	листя яблуні лісової	листя груші звичайної
Хлорофіли	0,4 %	5,32 %
Каротиноїди	2,5 мг%	3,2 мг%
Кислотне число	2,8	3,59
Число омилення	126,22	100,98
Ефірне число	123,42	97,39
Йодне число	76,14	31,72

Таблиця 2 – Жирнокислотний склад та їх кількісний вміст листя яблуні лісової та груші звичайної

№ за/п	Назва кислоти	Загальна формула	Вміст, % від суми	
			листя яблуні лісової	листя груші лісової
1	Каприлова	C _{8:0}	1,5006	0,5470
2	Лауринова	C _{12:0}	1,7596	0,6034
3	Міристинова	C _{14:0}	1,2251	0,4701
4	Пентадеканова	C _{15:0}	0,4037	-
5	Пальмітинова	C _{16:0}	29,9127	30,1932
6	Пальмітолеїнова	C _{16:1}	1,8299	1,3364
7	Гептадеканова	C _{17:0}	1,1619	0,0951
8	Стеаринова	C _{18:0}	3,7868	2,2839
9	Олеїнова	C _{18:1}	9,5637	9,7202
10	Ліолева	C _{18:2}	14,2711	14,4117
11	Ліноленова	C _{18:3}	33,1827	33,8902
12	Арахінова	C _{20:0}	0,6896	0,4207
13	Ерукова	C _{22:1}	-	1,1583
14	Докозадієнова	C _{22:2}	-	1,5008

4. Встановлено якісний склад та кількісний вміст хлорофілів, каротиноїдів та вільних жирних кислот у ліпофільних екстрактах з листя

яблуні лісової та груші звичайної, що буде використано при розробці аналітичної нормативної документації на даний лікарський засіб.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бендер К.И., Гоменюк Г.А., Фрейдман С.Л. Указатель по применению лекарственных растений в научной и народной медицине. – Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1998. – 112 с.
2. Биохимические методы анализа плодов // Сб. тр. АН Молдавской ССР. – Кишинева: Штиинца, 1984. – 114 с.
3. Гудвин Т.В. Сравнительная биохимия каротиноидов: Пер. с англ. – М.: Изд-во иностр. лит., 1954. – 396 с.
4. Державна Фармакопея України. – 1 вид. – Харків, 2001. – 532 с.
5. Кисличенко В.С., Криворучко Е.В., Комиссаренко Н.Ф. Липиды *Ribes nigrum* L. // Фармаком. – 1998. – № 2. – С. 26-28.
6. Король В.В. Фармакогностичне вивчення *Lotus corniculatus*: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 1999. – 16 с.
7. Ладыгина С.Я., Сафронова Л.Н., Отряшникова В.Э. и др. Химический анализ лекарственных растений: Учебное пособие для фармац. вузов / – М.: Высш. шк., 1983. – 176 с.
8. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. А.М. Гродзінського – К.: Голов. ред. укр. рад. енциклопедії ім. М.П. Бажана, 1991. – 344 с.
9. Масло облепиховое *Oleum Hipporphaes* // ФС 42-1730-86. – 7 с.
10. Методы биохимического исследования / Под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
11. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений. – К.: Наук. думка, 1976. – 334 с.
12. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. / Под ред. В.П. Георгиевского. – Харьков: ООО "Рирег", 1996. – 784 с.
13. Reynolds L.E.F. Martindale. The Extra Pharmacopoeia. – L.: Pharm. Press, 1989. – 1896 p.

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЛИСТЬЕВ ЯБЛОНИ ЛЕСНОЙ И ГРУШИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Е.Н. Новосел, В.С. Кисличенко, В.А. Ханин
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

С помощью жидкостного хроматографического фракционирования получены липофильные комплексы из листьев яблони лесной и груши обыкновенной, определен их качественный состав и установлено количественное содержание (хлорофиллов, каротиноидов, свободных жирных кислот), а также определены химические числовые показатели: кислотное число, число омыления, эфирное и йодное числа. Бумажная и тонкослойная хроматография впервые обнаружила в листьях обоих исследуемых видов токоферолы, витамины K_1 , β -ситостерин и лецитин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: выделение, идентификация, липофильные вещества, количественное определение, химические числовые показатели, яблоня лесная, груша обыкновенная.

ANALYSIS OF LIPOPHILIC FRACTIONS OBTAINED FROM LEAVES OF MALUS SILVESTRIS AND PYRUS COMMUNIS

О.М. Новосел, В.С. Кисличенко, В.А. Ханин
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

With the help of liquid chromatographic fractionating the lipophilic fractions from leaves of *Malus silvestris* and *Pyrus communis* are obtained, their qualitative structure is studied and the quantitative contents is established: chlorophylls, carotenoids, free fatty acids, and also the chemical numeric parameter sare determined: acid number, saponification ratio, ethereal and iodine numbers. Paper and thin-layer chromatography revealed in leaves of both studied kinds tocopherols, vitamin K_1 , β -sitosterin and lecithine for the first time.

KEY WORDS: allocation, identification, lipophilic matters, quantitative determination, chemical numeric parameters, *Malus silvestris*, *Pyrus communis*.

Отримано 25.11.2002 р.

Адреса для листування: О.М. Новосел, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ХІМІЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ КОМПОНЕНТІВ КРЕМУ ДИФТОРАНТОВОГО 1 %

В.О. Лебединець, Є.В. Гладух, М.Є. Блажеєвський, С.М. Коваленко
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Досліджено основні шляхи хімічної взаємодії компонентів крему дифторантового 1 % за допомогою визначення показників констант дисоціації кислотних агентів за різних умов (в гомо- і гетерогенних сумішах). Доведено, що на значення величини показника рК досить сильно впливає наявність поверхнево-активних речовин в системі. Показано доцільність і можливість використання за певних умов карбополів як загущуючих агентів зовнішньої фази емульсій I роду при наявності в них кислотних компонентів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: крем дифторантовий 1 %, константа дисоціації кислотних агентів, гомо- і гетерогенні суміші, поверхнево-активні речовини, карбополи.

ВСТУП. Незважаючи на досить гостру проблематику терапії псоріазу, як вітчизняний, так і світовий фармацевтичний ринок не насичений відповідними ефективними препаратами [9-11]. Серед антипсоріатичних засобів українського виробництва можна виділити новий препарат Борщагівського хіміко-фармацевтичного заводу (м. Київ) – мазь дифторантову 5 % на вазелін-ланоліновій основі. Діючою речовиною мазі є N-(4-дифторметилтіофеніл) антранілова кислота (дифторант), який виявляє виражені протизапальні, анальгетичні, жарознижувальні, ангіопротекторні, мембраностабілізувальні та антикінінові властивості, що зумовлюють здатність мазі корегувати основні патогенетичні ланки псоріазу [4, 7, 8].

Дифторант – досить ефективна лікарська субстанція, але, на нашу думку, ефективність лікарської форми, яка виробляється, може бути значно підвищена шляхом підбору оптимальної основи, яка б задовольняла сучасні вимоги [6]. За результатами виконаних фармакологічних, мікробіологічних і технологічних досліджень ми запропонували нову м'яку лікарську форму з дифторантом на емульсійній основі I роду – крем дифторантовий 1 %. Проведені роботи довели ефективність даного препарату і наявність переваг запропонованої основи серед багатьох досліджених [3]. Було обґрунтовано склад, співвідношення і кількість емульгаторів (стеарин і моностеарат гліцерину), природу і кількість олійної фази (кукурудзяна олія), допо-

© В.О. Лебединець, Є.В. Гладух – к.фарм.н., М.Є. Блажеєвський – к.хім.н., С.М. Коваленко – к.фарм.н., 2003.

міжних речовин (гліцерин, пропіленгліколь, карбомер тощо) [3-5]. Однак невисвітленими залишилися питання взаємодії активної речовини і допоміжних компонентів крему.

Мета роботи – провести дослідження щодо визначення можливих шляхів фізико-хімічної взаємодії деяких компонентів крему.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Серед усіх компонентів досліджуваної емульсії за нормальних умов (умовах зберігання препарату) реакційно здатними є всі кислоти і гідроксид натрію. Для уявлення хімічних процесів, які перебігають в досліджуваній системі, нами було вирішено визначити показники констант іонізації всіх кислот окремо в гомогенних розчинах і в модельних гетерогенних емульсійних системах. Всі три кислоти за умов іспитів здатні реагувати з сильним лужним агентом. У випадку їх суміші проходять конкуруючі реакції солеутворення. Порівнюючи значення показників констант дисоціації, можна з'ясувати переважний порядок перебігу даних реакцій і, як наслідок, оцінити рівноважний хімічний склад досліджуваної емульсійної системи.

Для розрахунку показника рК окремих карбонових кислот проводили потенціометричне титрування їх 0,005 М розчинів (для карбополу – 0,01 г/100 мл розчину) у системі “діоксан – вода” (3:2) за допомогою іономіра И-130 при температурі 25 °С. Як титрант використовували 0,1 М розчин гідроксиду натрію в такій же системі розчинників [1].

Для визначення показника константи дисоціації рК кислот в модельних емульсійних

системах готували емульсії складу: досліджувана кислота (0,05 М/100 мл емульсії, для карбополу марки 5984 – 0,1 г/100 мл емульсії), масло вазелінове ГОСТ 3164-78 (15 %), неіоногенний емульгатор № 1 (6 %), вода дистильована (до 100 %). Емульсію розбавляли водою дистильованою у співвідношенні 1:10, ретельно перемішували протягом 20 хв за допомогою магнітної мішалки і титрували 0,1 М водним розчином гідроксиду натрію. Для врахування уповільнення хімічних реакцій в емульсіях (гетерогенне середовище) урівноважене показання іономіра знімали через 5 хв після додавання титранту.

Константи дисоціації розраховували за рівнянням Гендерсона (метод № 1), а також за допомогою графічного методу, використовуючи значення рН у точці напівнейтралізації (метод № 2). Розраховані за даними умовами значення рК слід вважати концентраційними змішаними без урахування величини поправки Δ [1]. Одержані дані показників констант (табл. 1) обробляли статистично із застосуванням критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Серед досліджених кислотних компонентів крему дифторантового 1 % найбільше значення показника константи дисоціації за умов гомогенних розчинів має дифторант (потенціограму дифторанту в системі “діоксан – вода” (3:2) наведено на рисунку 1). Однак визначення констант дисоціації в модельних емульсійних системах виявило чітку тенденцію до зниження кислотних властивостей ліпофільних кислотних сполук у гетерогенних системах. Це, на нашу думку, може бути пов'язано з впливом поверхнево-активних речовин (в даному випадку – емульгатора), а також із тим, що реакції в такому випадку проходять лише на межі розподілу фаз, а не по всьому об'єму системи. Останнє підтверджує той факт, що в досліді з емульсією дифторанту при додаванні до гідрофільної фази відповідного розчинника (наприклад, діоксану або пропіленгліколю, в яких дифторант добре розчинний і тому переходить з олійної внутрішньої фази в зовнішню) значення рК отримували майже таке, як і в

гомогенних розчинах. Такі дані підтверджуються іншими авторами [2].

ВИСНОВОК. Отримані результати свідчать про те, що в реальній емульсійній системі, яка містить всі три досліджені кислоти, реакція солеутворення проходить перш за все з карбополом як з тим компонентом, що має найбільше значення рК в емульсії. Крім того, карбопол вводиться до зовнішньої гідрофільної фази емульсії, на відміну від інших ліпофільних сполук. Цей факт доводить доцільність використання карбополу як загущуючого агента зовнішньої фази емульсії I роду.

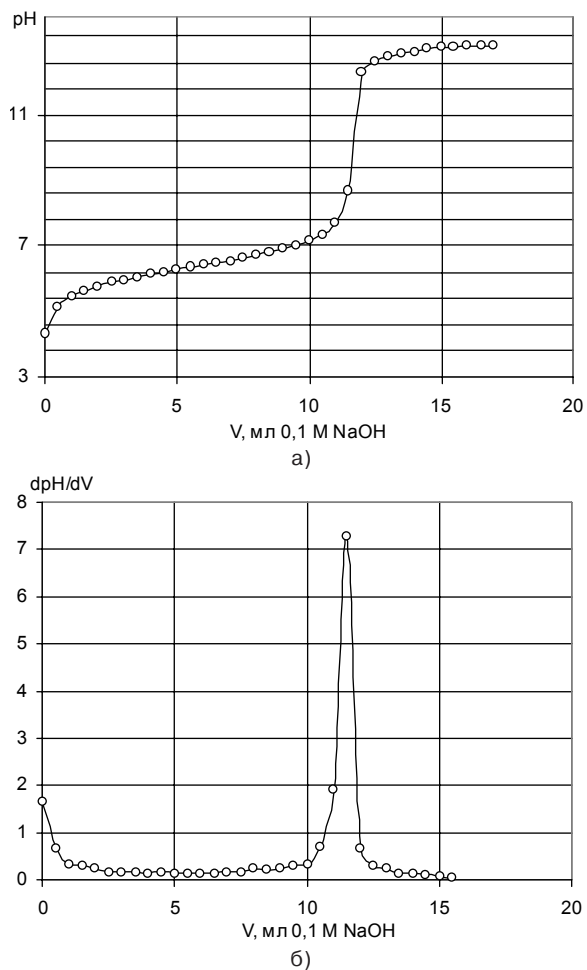


Рис. 1. Крива потенціометричного титрування дифторанту в системі “діоксан-вода” (3:2) (а) та її диференціальна форма (б).

Таблиця 1 – Показники констант дисоціації* компонентів крему дифторантового 1% ($n \geq 30$; $p \leq 0,05$)

Назва компонента	рК в окремих розчинах		рК в модельних емульсіях	
	(за методом № 1)	(за методом № 2)	(за методом № 1)	(за методом № 2)
Дифторант	6,40±0,05	6,40±0,05	7,30±0,08	7,30±0,10
Карбопол 5984	6,90±0,06	6,90±0,15	7,10±0,11	7,10±0,12
Стеаринова кислота	7,40 ± 0,09	7,50±0,12	9,10±0,11	9,10±0,11

Примітка. * – наведені значення рК без урахування поправки $\Delta = pH - pA_{H^+}^s$ [5].

ЛІТЕРАТУРА

1. Александров В.В. Кислотность неводных растворов. – Харьков: Вища школа, 1981. – 152 с.
2. Куличенко С.А., Шевченко А.М. Дифференцирующее действие эмульсий типа “масло в воде” на протолитические характеристики карбоновых кислот жирного ряда // Журн. аналит. хим. – 2002. № 1. – С. 80-84.
3. Лебединец В.О., Гладух Є.В. Обґрунтування складу м'якої лікарської форми з дифторантом // Вісник фармації. – 2002. – № 2 (30). – С. 21-23.
4. Міщенко О.Я., Лебединец В.О., Каменських М.С. Фармакологічне вивчення нової лікарської форми дифторанту // V Міжнарод. мед. конгрес студентів і молодих вчених. – Тернопіль, 2001. – 202 с.
5. Сытник О.Ю., Красноперова А.П., Лебединец В.А., Гладух Е.В. Влияние состава и температуры смешанного растворителя на растворимость лекарственных веществ // III Всерос. конф. молодых ученых “Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии”. – Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 2001. – 61 с.
6. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств / Под ред. И.М. Перцева, И.А. Зупанца. – Харьков: Изд-во УкрФА, 1999. – С. 241-257.
7. Черноштан К.А., Даниленко В.С. Новый препарат дифторант в лечении псориаза, красного плоского лишая и наружного диффузного отита // Ліки України. – 1999. – № 10-11. – С.16-18.
8. Черноштан К.О. Препарат дифторант у лікуванні псоріазу та червоного плискатого лишая // Тези доповідей II Нац. з'їзду фармакологів України “Фармакологія 2001 – крок у майбутнє”. – Дніпропетровськ, 2001. – 272 с.
9. Guilhou J.J. Immunopathogenesis of Psoriasis: News in an old concept // Dermatology. – 1998. – **197**. – P. 310-312.
10. Kata M., Aigne Z. Optimization of bioavailability of pharmacons // Acta Pharmaceutica Hungarica. – 1998. – № 2. – P. 107-112.
11. Rebelo M.L., Pika M.E. Release Kinetics of tretinoin from dermatological formulation // Drug Dev. And Ind. Pharm. – 1998. – № 7. – P. 727-730.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КОМПОНЕНТОВ КРЕМА ДИФТОРАНТОВОГО 1 %

В.А. Лебединец, Е.В. Гладух, Н.Е. Блажеевский, С.Н. Коваленко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Исследованы основные пути химического взаимодействия компонентов крема дифторантового 1 % при помощи определения показателей констант диссоциации кислотных агентов при разных условиях (в гомо- и гетерогенных смесях). Доказано, что на значение величины показателя рК довольно сильно влияет наличие поверхностно-активных веществ в системе. Показано целесообразность и возможность использования при определенных условиях карбополов в качестве загущающих агентов внешней фазы эмульсий I рода при наличии в них кислотных компонентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: крем дифторантовый 1 %, константа диссоциации кислотных агентов, гомо- і гетерогенні смеси, поверхностно-активные вещества, карбополи.

RESEARCH OF CHEMICAL INTERACTION OF DIFTORANT CREAM 1 % COMPONENTS

V.O. Lebedynets, Ye.V. Gladukh, M.Ye. Blazheyevsky, S.M. Kovalenko
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The main ways of chemical interaction of Diftorant Cream 1 % components are investigated by dissociation constants definition of acid agents under different conditions (in homogeneous and heterogeneous mixtures). It is proved, that value of a parameter pK rather significantly depends on surface-active substances presence in system. The expediency and opportunity of use of carbopoles such as density agents of an external phase of emulsion are shown at the presence of acid components under certain conditions.

KEY WORDS: diftorant cream 1 %, dissociation constants of acid agents, homo- and heterogeneous mixtures, surface-active substances carbopoles.

Отримано 26.11.2002 р.

Адреса для листування: В.О. Лебединець, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ СУРФАКТАНТА В КОНДЕНСАТІ ВИДИХНУТОГО ПОВІТРЯ У ЛІКВІДАТОРІВ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС

О.Б. Пікас

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Метою роботи було оцінити перекисне окиснення ліпідів сурфактанта за їх жирнокислотним спектром у конденсаті видихнутого повітря (КВП) ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, які мали інвалідність, пов'язану з нею. Жирнокислотний склад фосфоліпідів у КВП визначали біохімічним методом на газорідному хроматографі серії "Цвет-500". Було встановлено, що у здорових осіб спостерігається висока насиченість жирних кислот (ЖК) за рахунок пальмітинової ($C_{16:0}$) і стеаринової ($C_{18:0}$). У ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, які мали інвалідність, пов'язану з нею, значно збільшувався вміст ненасичених ЖК ліпідів, що свідчить про суттєві порушення в сурфактанті легень, пригнічуючи його поверхневу активність, та зумовлює виникнення й розвиток запальних процесів.

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

ВСТУП. Шістнадцять років минуло з того часу, коли хмара радіації розмежувала наше життя на дві епохи – "до Чорнобиля" і "після Чорнобиля". Чорнобильська катастрофа спричинила важкі наслідки в усіх сферах нашого буття, а найбільше – у стані здоров'я і житті уражених. Під впливом іонізуючого випромінювання перебувало чимало людей – учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС та осіб, які мешкають на радіаційно забруднених територіях.

Дихальні шляхи – це органи-мішені для радіонуклідів, що підвищують ризик виникнення раку легень, сприяють виникненню та розвитку бронхолегеневої патології, збільшують захворюваність на туберкульоз та інфікованість серед дітей.

Велика кількість радіонуклідів, які потрапляють в організм людини інгаляційним шляхом, призводить до розвитку променевого пневмоніту та фіброзу, зумовлює зниження синтезу та секреції сурфактанта на альвеолярну поверхню, що відіграє важливу роль у фізіології дихання. Фіброз легеневої тканини, що повільно прогресує, поступово призводить до зниження функції легень, сприяє виникненню ускладнень неспецифічних захворювань (пневмоній, бронхітів) та розвитку туберкульозного процесу чи його реактивації [2, 3]. Помірні дози радіації спричиняють атрофію та метаплазію

© О.Б. Пікас – к.мед.н., 2003.

слизової оболонки, що активує автофлору дихальних шляхів і сприяє частому загостренню їх захворювань.

Таким чином, аварія на ЧАЕС поставила перед медициною складну проблему – вивчити вплив помірних доз радіації на організм людини.

Велику роль у функціонуванні легеневої тканини відіграють поверхнево-активні властивості (ПАВ) сурфактанта, до складу якого входять насичені й ненасичені жирні кислоти (ЖК). Оскільки сурфактант легень можна виявити в конденсаті видихнутого повітря (КВП), то зміна його поверхнево-активних властивостей та оцінка їх є інформативними для діагностики патологічних процесів в органах дихання. Внаслідок процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) змінюються поверхнево-активні властивості сурфактанта [1] та кількість ЖК, особливо поліненасичених (ПНЖК) – лінолевої ($C_{18:2}$) та арахідонової ($C_{20:4}$), що є важливим та інформативним для якісного і кількісного їх визначення в КВП.

Тому перед нами була поставлена така мета – оцінити ПОЛ сурфактанта за їх жирнокислотним спектром у КВП у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, які мали інвалідність, пов'язану з нею.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами було обстежено 84 здорові особи, які проживали в

м. Києві й не брали участі в ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС (I група, контрольна), та 35 осіб того ж віку, які брали участь у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС і мали інвалідність, пов'язану з ліквідацією (II група).

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

КВП збирали за допомогою спеціальної скляної трубку-конденсатора, попередньо знежиреної у хромовій суміші, добре промитої дистильованою водою і просушеної в сухожаровій шафі згідно з інформаційним листом О.Б. Пікас і Р.Г. Процюка [4]. До верхньої частини трубки приєднували колбочку для збирання КВП. Трубка-конденсатор опускали в посудину, заповнену 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 колбу, після чого конденсат виливали в чисту знежирену склянку.

Перед збором КВП пацієнта ознайомили з методикою обстеження. Один кінець трубки-конденсатора у вигляді мундштука містився в ротовій порожнині обстежуваного. У процесі збору конденсату пацієнт у звичайному режимі вдихав повітря через ніс і рівномірно вільно видихав через рот у систему. Перед дослідженням йому пропонували прополоскати ротову порожнину 100 мл фурациліну (1:5000). Дослідження проводили вранці натщесерце. Жирнокислотний склад фосфоліпідів у КВП визначали біохімічним методом, в основі якого лежать екстракція ліпідів із КВП, виділення фосфоліпідів, метилювання і газохроматографічний аналіз жирних кислот на газорідинному хроматографі серії "Цвет-500" із плазмоіонізаційним детектором в ізотермічному режимі. Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів проводили

за методом нормування площ і визначення частки ЖК у відсотках. Похибка визначення показників становила $\pm 10\%$ [5, 6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У жирнокислотному спектрі ліпідів КВП контрольної групи в найбільшій кількості було виявлено насичені ЖК: пальмітинову ($C_{16:0}$) – $(52,30 \pm 1,40)\%$ та стеаринову ($C_{18:0}$) – $(19,30 \pm 1,00)\%$. Серед ненасичених багато було олеїнової ЖК ($C_{18:1}$) – $(20,67 \pm 1,30)\%$; сума ПНЖК становила $(7,73 \pm 1,09)\%$. Наші дослідження показують, що в осіб I групи (здорових) сурфактант характеризується підвищеною насиченістю ЖК (до $(71,60 \pm 1,47)\%$), особливо за рахунок пальмітинової ЖК ($C_{16:0}$), що сприяє стійкості сурфактанта до посилення вільнорадикальних процесів ПОЛ.

В осіб II групи спостерігалось різке збільшення кількості ПНЖК до $(77,60 \pm 1,25)\%$, порівняно з групою контролю – $(28,40 \pm 1,50)\%$, $p < 0,05$, причому за рахунок олеїнової ЖК ($C_{18:1}$) – $(48,40 \pm 0,20)\%$, $p < 0,05$ (в групі контролю – $(20,67 \pm 1,30)\%$) та підвищеної суми ПНЖК – $(29,60 \pm 1,15)\%$ (в групі контролю – $(7,73 \pm 1,09)\%$), $p < 0,05$. В осіб цієї групи відмічалось достовірне зниження рівня насичених ЖК: пальмітинової ($C_{16:0}$) – до $(20,00 \pm 1,50)\%$ (в групі контролю – $(52,30 \pm 1,40)\%$) та стеаринової ($C_{18:0}$) – до $(2,4 \pm 0,2)\%$ (в групі контролю – $(19,30 \pm 1,00)\%$), $p < 0,05$.

ВИСНОВКИ. Проведені дослідження показали, що радіаційне опромінення викликає зміни жирнокислотного спектра ліпідів КВП. У ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, які мали інвалідність, пов'язану з нею, спостерігалось значне збільшення вмісту ненасичених ЖК ліпідів, що свідчить про суттєві порушення в сурфактанті легень, зумовлює виникнення й розвиток запальних процесів в органах дихання. Визначення жирнокислотного спектра ліпідів КВП доцільно застосовувати при виборі найбільш обґрунтованих терапевтичних підходів у лікуванні та виявленні осіб із захворюваннями органів дихання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в живых системах // Биофизика. – 1991. – 29. – 249 с.
2. Москалев Ю.И. Кинетика обмена, биологическое действие радиоактивных изотопов иода. Медицинская радиология // Матер. III Всесоюзной конференции. – 1987. – № 11. – С. 91-94.

3. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия ионизирующих излучений. – М.: Медицина, 1991. – 163 с.

4. Пікас О.Б., Процюк Р.Г. Інформаційний лист "Спосіб вивчення вологовидільної функції легень". – 2000. – 2 с.

5. Рыбакова Е.В., Сидельников В.М., Брюзгина Т.С., Кравченко Э.Л. Информационное письмо "Способ газохроматографического определения липидов в конденсате выдыхаемого воздуха". – 1991. – 2 с.

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

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ СУРФАКТАНТА В КОНДЕНСАТЕ ВЫДОХНУТОГО ВОЗДУХА У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС

О.Б. Пикас

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Целью работы было оценить перекисное окисление липидов сурфактанта по их жирнокислотному спектру в конденсате выдохнутого воздуха (КВВ) у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, которые имели инвалидность, связанную с ней. Жирнокислотный состав фосфолипидов в КВВ определяли биохимическим методом на газожиждкостном хроматографе серии "Цвет-500". Было установлено, что у здоровых лиц наблюдается высокая насыщенность жирных кислот (ЖК) за счет пальмитиновой ($C_{16:0}$) и стеариновой ($C_{18:0}$). У ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, которые имели инвалидность, связанную с ней, значительно увеличивалось содержание ненасыщенных ЖК липидов, что свидетельствует о существенных нарушениях в сурфактанте легких, угнетая его поверхностную активность, и обуславливает возникновение и развитие воспалительных процессов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сурфактант легких, перекисное окисление липидов, жирнокислотный спектр липидов, конденсат выдохнутого воздуха, ликвидаторы.

LIPID PEROXIDATION IN SURFACTANT OF EXPIRED AIR CONDENSATE FROM LIQUIDATORS OF THE CLORNOBYL ACCIDENT CONSEQUENCES

O.B. Picas

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLOTS

Summary

The study was aimed in evaluation of peroxidation of surfactant lipids by their fatty-acid spectrum in expired air condensate (EAC) from liquidators of the ChNPP Accident consequences, which were invalidated. Fatty-acid composition of EAC phospholipids was determined by the biochemical method using a "Svet-50" gas-liquid chromatograph. It was shown that normal subjects had high saturation of fatty-acid (FA), mostly at the expense of palmitinic FA ($C_{16:0}$) and stearic FA ($C_{18:0}$). On the other hand, invalidated liquidators showed a significant rise in unsaturated FA lipids, which indicated the presence of considerable disorders in pulmonary surfactant resulting in its inhibited surface activity and leading to the appearance and development of inflammatory processes.

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

Отримано 21.11.2002 р.

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

ЛОКАЛІЗАЦІЯ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У РОСЛИНАХ ПОРЯДКУ BETULALES. ДОСЛІДЖЕННЯ ПАГОНІВ РОСЛИН РОДУ БЕРЕЗА BETULA L.

О.П. Хворост

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

За допомогою гістохімічних реакцій вивчено закономірності накопичення поліфенольних сполук (ПФС) в асимілюючих здерев'янілих пагонах 17 видів роду береза *Betula L.* Загальною ознакою є більше накопичення ПФС у здерев'янілих пагонах, порівняно з асимілюючими. До рослин, пагони яких накопичують значну кількість ПФС, належать б.повисла, б.пухнаста, б.крупнолиста, б.дрібнолиста, б.аянська.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: береза, пагони, поліфенольні сполуки, гістохімія.

ВСТУП. Рід береза *Betula L.* родини *Betulaceae* об'єднує 140 видів, у флорі колишнього СРСР налічується 73 види та 25 інтродукованих [3. 6]. У науковій медицині застосовують березові бруньки [2]. У народній медицині використовують гілки, кору, корінь, чоловічі та жіночі суцвіття, березовий гриб (чагу). Відвар молодих пагонів застосовують при запальних захворюваннях нирок, сечового міхура, в тому числі при нирково- та сечокам'яній хворобі, захворюваннях шлунково-кишкового тракту, ангіні, для зміцнення зубів та ясен [1, 4, 5].

Мета роботи – виявлення закономірностей накопичення поліфенольних сполук (ПФС) в пагонах рослин роду береза *Betula L.* Об'єктом нашого дослідження були асимілюючі та здерев'янілі пагони 17 видів роду береза *Betula L.* родини *Betulaceae*: б.аянської – *B.ajanensis* Kom., б.дрібнолистої – *B.microphylla* Vge., б.ільмолистої – *B.ulmifolia* Sieb. et Zucc., б.кам'яної – *B.ermanii* Cham, б.карликової – *B.nana* L., б.крупнолистої – *B.*, б.чагарникової – *B.fruticosa* Pall., б.маньчжурської – *B.mandshurica* (Regel) Nakai., б.Міддендорфа – *B.mid-dendorffii* Trautv. et Mey, б.низької – *B.humilis* Schrank., б.ребристої – *B.costata* Trautv., б.плосколистої – *B.platyphylla* Sukacz., б.повислої – *B.pendula* Roth., б.пухнастої – *B.pubescens* Ehrh., б.Шмідта – *B.schmidtii* Rgl., б.японської – *B.japonica* Sieb.

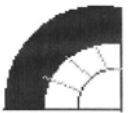



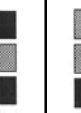


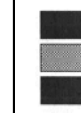

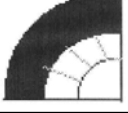
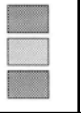


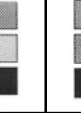
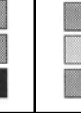

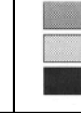

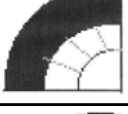
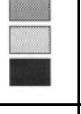


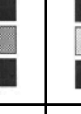
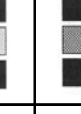




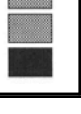



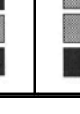



© О.П. Хворост – к.фарм.н., 2003.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сировину збирали на території Харківської області та в Ботанічному саду Національного університету ім. В.М. Каразіна в такі терміни: пагони 1-5 років життя – на початку сокоруху, в березні-квітні 2000-2001 рр. Зрізи свіжої сировини виготовляли за загальноприйнятими методиками [7]. Локалізацію ПФС визначали за допомогою мікрохімічних реакцій з біхроматом калію (за методом Саньо), молібдатом амонію та хлоридом амонію (за методом Гардинера), хлоридом заліза (III) (за методом Бородіна) [7], а також із сульфатом заліза (II). Останню реакцію ми запропонували через можливість відокремити групи ПФС за забарвленням, що утворилося.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження наведено в таблиці 1. Накопичення ПФС у пагонах рослин роду береза *Betula L.* має такі загальні закономірності. Після проведення реакцій за методами Саньо та Гардинера виявлено багато осаду, причому дані стосовно асимілюючих та здерев'янілих пагонів кожного з видів, які вивчалися, були однаковими. Порівняння реакцій з солями заліза (III) та заліза (II) засвідчило різне забарвлення тканин. Більшість тканин пагонів під дією солей заліза (II) забарвлюються в коричнево-зелений колір, що вказує на наявність похідних пірокатехіну. Що стосується реакцій за цими двома методами, то часто

Таблиця 1 – Локалізація ПФС в пагонах рослин
роду береза *Betula L.*





Вид	Фрагмент зрізу	Асимілюючий пагін				Здерев'янілий пагін			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
б. карликова									
б. ребриста									
б. ільмолиста									
б. маньчжурська									
б. аянська									
б. Міddenдорфа									
б. крупнолиста									
б. дрібнолиста									
б. чорна									
б. плосколиста									
б. японська									
б. кам'яна									
б. чагарникова									

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
б.Шмідта									
б.низька									
б.пухнаста									
б.повисла									

Примітки:



I – за методом Бородіна, II – із сульфатом заліза (II), III – за методом Гардинера, IV – за методом Саньо.

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

спостерігаються негативні наслідки, особливо для клітин ксилеми та серцевини. Вміст ПФС у здерев'янілих пагонах більший, ніж в асимілюючих. ПФС виявлено переважно в перидермі та коровій частині пагонів.

До рослин, що накопичують ПФС в усіх тканинах пагона, приблизно рівномірно належать б.кам'яна (в обох типах пагонів) та майже всі здерев'янілі пагони видів, які вивчаються. До видів, що містять незначну кількість ПФС, відносять: б.чагарникову (обидва типи пагонів), б.низьку, б.чорну (асимілюючі пагони). Велику кількість ПФС накопичують асимілюючий пагін б.Шмідта, кора та серцевина здерев'янілих пагонів б.карликової, б.ребристої, б.маньчжурської, б.плосколистої, б.крупнолистої, б.дрібнолистої, б.пухнастої та б.повислої.

ВИСНОВКИ. 1. Уперше проведено вивчення локалізації та закономірностей накопичення поліфенольних сполук в асимілюючих та здерев'янілих пагонах 17 видів роду береза *Betula* L. за допомогою мікрохімічних реакцій за методами Саньо, Гардинера, Бородіна та солями заліза (II).

2. Здерев'янілі пагони практично всіх видів берез, які вивчилися, накопичують більшу кількість ПФС, порівняно з асимілюючими.

3. Пагони 2-5 років життя б.повислої, б.пухнастої, б.крупнолистої, б.дрібнолистої, б.аянської накопичують значну кількість ПФС та потребують подальших досліджень як перспективні джерела отримання комплексів ПФС.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виноградова Т.А., Гажев Б.Н., Виноградов В.М., Мартынов В.К. Практическая фитотерапия. – М.: ОЛМА-ПРЕСС, С.Пб.: Издательский дом "Нева", "Валери СПД", 1998. – 640 с.

2. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – Вып. 2. – 400 с.

3. Комаров В.Л. Род Ольха *Alnus Gaertn* // Флора СССР: в 30 т. – М.-Л., 1936. – 5. – С. 306-319.

4. Лушпа В.І. Береза повисла в офіційній та народній медицині // Фітотерапія в Україні. – 2001. – № 1-2. – С. 48-52.

5. Нестеровская А.Ю., Рендюк Т.Д., Спешиллов Л.Я. и др. Энциклопедия травцелительств. – М.: КРОН-ПРЕСС, 1999. – 736 с.

6. Рубцов Л.И., Гордиенко И.И., Каплененко Н.Ф. и др. Деревья и кустарники. Покрытосеменные: Справочник. – К.: Наукова думка, 1974. – 589 с.

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

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ ПОРЯДКА BETULALES. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОБЕГОВ РАСТЕНИЙ РОДА БЕРЕЗА BETULA L.

О.П. Хворост

НАЦИОНАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

С помощью гистохимических реакций изучены закономерности накопления полифенольных соединений (ПФС) в ассимилирующих и одревесневших побегах 17 видов рода береза *Betula L.* Общим признаком является большее накопление ПФС в одревесневших побегах, в сравнении с ассимилирующими. К растениям, побеги которых накапливают значительное количество ПФС, относятся б.повислая, б.пушистая, б.крупнолистная, б.мелколистная, б.аянская.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: береза, побеги, полифенольные соединения, гистохимия.

LOCALIZATION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN THE PLANTS OF BETULALES ORDER. THE INVESTIGATION OF BETULA L. GENUS PLANT SHOOTS

O.P. Khvorost

NATIONAL PHARMACEUTICAL ACADEMY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

Regularities of polyphenolic compounds (PPC) accumulation in assimilating and wooden shoots of 17 species of birch genus have been studied by histochemical reactions. The common features are larger accumulation of PPC in wooden shoots comparing with assimilating ones. Birches which shoots accumulate great amounts of PPC are *B.verrucosa*, *B.pubescens*, *B.grandipholia*, *B.microphylla*, *B.ajanensis*.

KEY WORDS: birch, shoots, polyphenolic compounds, hystochemistry.

Отримано 25.11.2002 р.

Адреса для листування: О.П. Хворост, вул. Р. Ейдемана, 8, кв. 54, Харків, 61112, Україна.

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ ТРАНСДЕРМАЛЬНИХ ТЕРАПЕВТИЧНИХ СИСТЕМ, ЩО МІСТЯТЬ ПОХІДНІ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ

І.А. Кравченко, О.І. Александрова, Н.В. Овчаренко
ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. А.В. БОГАТСЬКОГО,
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА

Робота присвячена вивченню фізико-хімічних властивостей трансдермальних терапевтичних систем і стабільності даної лікарської форми. Встановлено, що рН досліджуваних терапевтичних систем відповідає рН шкірного покриву та не має подразнюючої дії. Вміст похідних 1,4-бенздіазепіну в досліджуваних транс-дермальних терапевтичних системах визначали за допомогою методу УФ-спектрофотометрії. Встановлено, що з часом (2 роки) концентрація активних речовин у матричній системі, величини відносного часу витікання розчинів матриць, їхня кольоровість і прозорість до та після зберігання не змінюються.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: трансдермальні терапевтичні системи, фізико-хімічні властивості, зберігання, стабільність.

ВСТУП. Для системного впливу на організм шляхом уведення лікарських речовин через неушкоджену шкіру успішно використовуються трансдермальні терапевтичні системи (ТТС) [1-3]. З літературних даних відомі два основні різновиди таких систем: мембранні та матричні. Мембранні чи резервуарні системи досить складні з огляду на технологічний процес виготовлення. Вони являють собою резервуар з лікарською речовиною, що обмежена непроникним пластичним покриттям – з одного боку і мембраною – з іншого. Саме мембрана з визначеним розміром пор контролює вивільнення лікарського препарату з матриці в шкіру. Матричні системи являють собою гідрофільну чи ліпофільну полімерну матрицю, в якій гомогенно диспергована лікарська речовина. Надходження препарату з матриці в шкіру в основному здійснюється під впливом дифузії [2-4].

Використання ТТС для доставки лікарських речовин через неушкоджену шкіру забезпечує пролонгованість дії препаратів, що вводяться, внаслідок постійного надходження препарату з матриці в шкіру, тканини та біологічні рідини організму, в результаті чого концентрація препарату підтримується на стаціонарному терапевтичному рівні [4, 5].

Мета нашого дослідження полягала у вивченні фізико-хімічних властивостей та стабільності матричних ТТС, що містять похідні 1,4-бенздіазепіну.

© І.А. Кравченко – к.хім.н., О.І. Александрова, Н.В. Овчаренко, 2003.

Було використано такі матеріали: полівініловий спирт (ПВС) ТУ 64-5-57-79, 96 % етиловий спирт, субстанції похідних 1,4-бенздіазепіну (феназепам, нозепам, діазепам).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. ТТС являє собою гідрогелеву матрицю, яка складається з 1,2-пропіленгліколю та полівінілового спирту, приготовлену методом "полив-сушіння". ТТС висушували протягом 3 діб при температурі 20 °С до постійної маси (84 ± 2 мг/см²).

Для визначення рН ТТС на рН-метрі її поміщали в колбу об'ємом 50 см³, розчиняли в невеликій кількості дистильованої води при нагріванні, охолоджений розчин доводили дистильованою водою до мітки. Визначення проводили в трьох паралелях, дані обробляли статистично.

Аналіз вмісту похідних 1,4-бенздіазепіну у свіжовиготовлених ТТС та у ТТС, що зберігалися, проводили спектрофотометричним методом у діапазоні довжин хвиль від 200 до 300 нм по каліброваній кривій. Динаміку часу витікання розчинів матриць залежно від концентрації визначали за допомогою віскозиметра при температурі 18 °С. Вимірювали відносний час витікання розчинів з матриць до та після зберігання. У кожному вимірі використовували 4 паралелі. Дані обробляли статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. ТТС, які використовувалися для аплікації на шкіру, не повинні викликати місцевоподразнюючих та алергійних реакцій, а також порушувати

кислотно-лужний баланс шкірного покриву. Дуже важливо, щоб з часом фізико-хімічні властивості системи та діючої речовини не змінювалися. Запропонована нами ТТС являє собою прозору еластичну матрицю, що не змінює своїх властивостей при тривалому зберіганні в належних умовах.

Далі для порівняльної оцінки нами будуть наводитися значення свіжовиготовлених ТТС і ТТС, що зберігалися. Стабільність систем та діючих речовин перевіряли після зберігання їх протягом 2-х років в ізолюваній упаковці, без доступу повітря, при кімнатній температурі. Розчин свіжовиготовлених ТТС та ТТС, що зберігалися (1 см²) у 60 % розчині етилового спирту, є прозорим та безбарвним. Значення величин рН ТТС до та після зберігання (табл. 1) залишилися незмінними.

Вид УФ-спектрів також не змінює свого профілю. Інтенсивність та максимуми поглинання похідних 1,4-бенздіазепіну в обраному діапазоні довжин хвиль для кожного препарату в складі свіжовиготовлених ТТС та ТТС, які зберігалися, не зазнали змін, що вказує на стабільність цих препаратів у складі дослідженої форми (рис. 1, табл. 2).

Стабільність лікарської форми, яка нами використовується, також підтверджується значеннями відносного часу витікання розчинів свіжовиготовлених ТТС та ТТС що зберігалися. Час витікання розчину вимірювали відносно часу витікання дистильованої води залежно від концентрації ТТС (табл. 3).

Незмінність цього показника свідчить про те, що протягом зберігання не відбувається змін у полімерній матриці. Це також вказує на її стабільність.

ВИСНОВОК. Досліджена нами ТТС є стабільною матричною системою для доставки лікарських препаратів, зокрема похідних 1,4-бенз-

діазепіну, які не змінюються у її складі, через неушкоджену шкіру у внутрішнє середовище організму, а також придатна для використання протягом 2-ох років з моменту виготовлення.

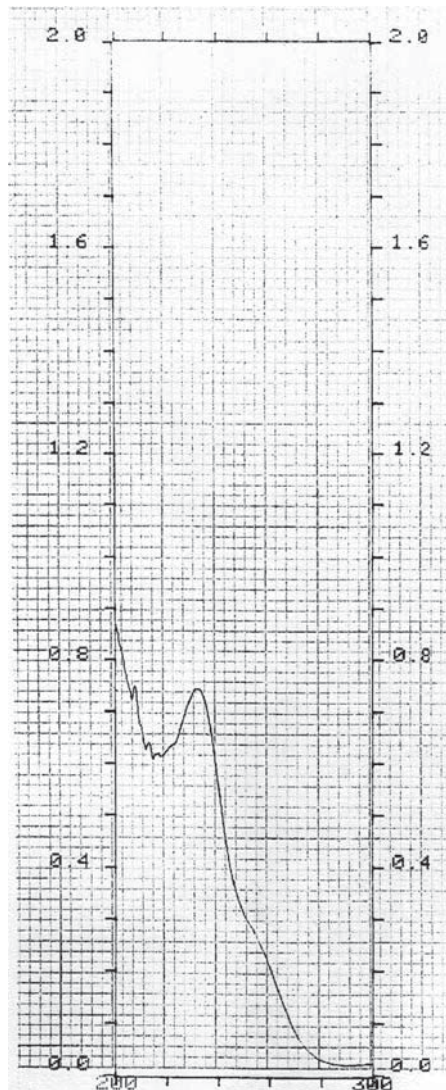


Рис. 1. УФ-спектр фенозепаму у складі ТТС до та після зберігання.

Таблиця 1 – Визначення значень рН ТТС, що містять різні похідні 1,4-бенздіазепіну (0,4 мг/см²)

ТТС	рН свіжовиготовлених ТТС	рН ТТС після зберігання
Контроль (чиста ТТС)	5,42±0,04	5,41±0,03
ТТС із фенозепамом	5,51±0,02	5,51±0,01
ТТС із нозепамом	5,55±0,02	5,55±0,03
ТТС із діазепамом	5,47±0,03	5,50±0,04

Таблиця 2 – Кількісне визначення активних речовин у розчинах ТТС до та після зберігання

№ за/п	Активна речовина	Свіжовиготовлена ТТС		ТТС після зберігання		С активної речовини* мг/см ²
		λ поглинання, нм	A	λ поглинання, нм	A	
1	Фенозепам	231,0±0,8	0,746±0,030	231,6±0,6	0,739±0,020	0,50±0,01
2	Діазепам	230,6±0,6	1,094±0,060	230,0±0,4	1,138±0,040	0,40±0,01
3	Нозепам	229,8±1,2	0,931±0,050	231,4±0,9	0,895±0,050	0,40±0,02

Таблиця 3 – Відносний час витікання розчинів ТТС

№ за/п	С _{ТТС} , мг ТТС/мл	Відносний час витікання	
		Свіжі ТТС	ТТС після зберігання
1	8,4	1,08±0,01	1,10±0,02
2	16,8	1,20±0,03	1,23±0,03
3	25,2	1,30±0,02	1,32±0,02
4	33,6	1,37±0,03	1,38±0,01
5	42,0	1,45±0,02	1,47±0,02
6	58,8	1,69±0,02	1,71±0,03

ЛІТЕРАТУРА

1. Губина Т.Н., Ковалёв И.П. Трансдермальные терапевтические системы // Технология и стандартизация лекарств. – Харьков, 1996. – С. 17-20.
2. Кравченко И.А. Трансдермальное введение лекарственных препаратов. – Одесса: Астропринт, 2001. – 166 с.
3. Ogiso T., Ito Y., Iwaki M., Yamamoto Y. Membrane-controlled transdermal therapeutic system containing clonazepam and anticonvulsant activity after its application // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). – 1989. – **37**, № 2. – P. 446-449.
4. Potts R.O., Cleary G.W. Transdermal drug delivery: useful paradigms // J. Drug Target. – 1995. – **4**. – P. 247-257.
5. Ranade V.V. Drug delivery systems // J. Clin. Pharmacol. – 1991. – **31**, № 5. – P. 401-418.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СТАБИЛЬНОСТЬ ТРАНСДЕРМАЛЬНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СИСТЕМ, СОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫЕ 1,4-БЕНЗДИАЗЕПИНА

И.А. Кравченко, А.И. Александрова, Н.В. Овчаренко
 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. А.В. БОГАТСКОГО
 ОДЕССКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.И. МЕЧНИКОВА

Резюме

Работа посвящена изучению физико-химических свойств трансдермальных терапевтических систем и стабильности данной лекарственной формы. Установлено, что pH исследуемых терапевтических систем соответствует pH кожного покрова и не обладает раздражающим действием. Содержание производных 1,4-бенздиазепина в исследуемых ТТС определяли с помощью метода Уф-спектрофотометрии. Установлено, что со временем (2 года) концентрация активных веществ в матричной системе, величины относительного времени истечения растворов матриц, их цветность и прозрачность до и после хранения не изменяются.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: трансдермальные терапевтические системы, физико-химические свойства, хранение, стабильность.

PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES AND STABILITY OF THE TRANSDERMAL THERAPEUTIC SYSTEMS, CONTAINING 1,4-BENZDIAZEPINE DERIVATIVES

I.A. Kravchenko, O.I. Alexandrova, N.V. Ovcharenko
 PHYSICO-CHEMICAL INSTITUTE BY A.V. BOHATSKY
 ODESA NATIONAL UNIVERSITY BY I.I. MECHNIKOV

Summary

The work is dedicated to physical and chemical properties and stability of the transdermal therapeutic system (TTS), containing 1,4-benzdiazepine derivatives. It is found that pH of the studied therapeutic systems is equal to that of the skin and this hydrogel form has no irritant action. The quantity of the 1,4-benzdiazepine derivatives in the TTS was estimated by the help of the UV-spectrophotometry, and it was shown that during 2 years concentration of the active components in the matrix doesn't change as well as the values of the relative efflux time of the matrix solutions, chromaticity and transparency don't change.

KEY WORDS: transdermal therapeutic systems, physical and chemical properties, storing, stability.

Отримано 10.12.2002 р.

Адреса для листування: І.А. Кравченко, Італійський бульв., 11, кв. 5, Одеса, 65012, Україна.

ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ НЕФРОТОКСИЧНОЇ ДІЇ КАДМІЮ, ТАЛІЮ, ПЛАТИНИ ТА РТУТІ

В.М. Магальяс, К.Г. Тащук, М.М. Радько, Р.І. Рудницький, М.Д. Перепелюк
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

У результаті дослідження встановлено, що загальною закономірністю нефротоксичності важких металів є первинне пошкодження проксимальних канальців нефрону зі зниженням його функції, що формує комплекс захисно-приспосувальних реакцій на рівні нирок. Головною ланкою цього є активація тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку за рахунок підвищення активності ренін-ангіотензинової системи, що призводить при значній активації до переростання захисної реакції в пошкоджувальну з розвитком ішемії кіркової речовини нирок та активації перекисного окиснення ліпідів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **важкі метали, нирки, токсичність.**

ВСТУП. За останні 20 років стан здоров'я населення України дуже погіршився [5], що значною мірою зумовлено антропологічним забрудненням навколишнього середовища, зокрема сполуками важких металів – кадмію, талію, платини і ртуті [2]. Численними дослідженнями доведено, що техногенне забруднення навколишнього середовища та екологічні катастрофи призводить до змін структури адаптаційно-компенсаторних систем організму, які для стабілізації основних параметрів функціонують у напруженому режимі [1, 4, 6]. Важкі ж метали, особливо кадмій і ртуть, зумовлюють формування токсичних нефропатій, які проявляються у вигляді різноманітних симптомкомплексів [3].

При вивченні токсичних нефропатій увагу було здебільшого зосереджено на виявленні специфічних симптомів пошкодження нирок та їх зв'язку із специфікою дії того чи іншого металу і токсину. Виходячи з положення про те, що патогенез значною мірою формується за типовими механізмами ми висунули припущення щодо наявності загальних закономірностей у розвитку токсичних нефропатій, які викликані важкими металами.

Метою роботи було вивчити загальні закономірності нефротоксичної дії важких металів для розробки адекватних, патогенетично обґрунтованих методів корекції цих порушень.

© В.М. Магальяс, К.Г. Тащук, М.М. Радько, Р.І. Рудницький, М.Д. Перепелюк, 2003.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досягнення мети дослідження в експериментах на 488 білих щурах-самцях масою 160-180 г вивчали функціональний стан нирок, гістологічні та біохімічні зміни в нирках при введенні зростаючих доз хлоридів ртуті, кадмію, талію і платини. Функцію нирок вивчали в умовах індукованого водного діурезу через 24 год після введення хлористих сполук важких металів. Усі дослідження проведено за загальноприйнятими методиками.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що хлорид талію у дозі 10,0 мг/кг маси тіла викликає пошкодження ниркових канальців, оскільки при цьому не лише порушується транспорт білків, а й знижується реабсорбція води, у 2 рази зростають концентрація натрію в сечі та його екскреція. Рівень функціональних порушень локалізувався в початкових відділах нефронів – проксимальна реабсорбція натрію знижувалась.

Збільшення дози хлориду талію викликало грубі порушення діяльності нирок: при дозі 25,0 мг/кг маси тіла сечовиділення знижувалось у 3,4 рази; 50,0 мг/кг – діурез зменшувався майже на порядок; 100,0 мг/кг – наставала анурія.

Активність ренін-ангіотензинової системи (РАС) прогресивно зростала, починаючи з дози хлориду талію 10,0 мг/кг маси тіла, що супроводжувалось зменшенням швидкості клубочкової фільтрації аж до розвитку анурії,

коли активність реніну плазми сягала максимального рівня.

Доза платидіаму 0,5 мг/кг маси тіла викликала суттєві зміни в діяльності нирок. З високим ступенем достовірності знижувались показники абсолютного і відносного діурезу, відмічалась виражена тенденція до зниження концентрації калію в сечі та зменшення його екскреції у 2,65 раза. Зростала концентрація креатиніну в плазмі крові, на 67,31 % знижувалась швидкість клубочкової фільтрації. Концентрація натрію в сечі підвищувалась у 2,77 раза.

Активність реніну плазми прогресивно зростала в міру збільшення дози платидіаму: 2,5 мг/кг – (6,24±0,18) нг/мл/год; 5,0 мг/кг – (8,96±1,02) нг/мл/год; 10,0 мг/кг – (16,40±1,98) нг/мл/год.

Сулема викликала найбільші порушення функції нирок в дозі 5,0 мг/кг маси тіла: рівень діурезу знижувався у 2,84 раза, його зменшення не досягало ступеня анурії лише тому, що реабсорбція води зменшувалась на 27,32 %. Швидкість клубочкової фільтрації знижувалась настільки різко, що концентрація креатиніну в плазмі крові досягала ступеня уремії ((347,85±82,23) мкмоль/л).

Пошкодження нирок сулемою в цій дозі призводило до зниження абсолютної реабсорбції натрію в 9,31 раза з чіткою локалізацією порушення діяльності натрійтранспортних систем на рівні проксимальних канальцевих структур нефрону: проксимальна реабсорбція натрію знижувалась на 34,78 %, тоді як дистальний транспорт цього катіона підвищувався більш ніж у 4 рази. З боку натрійрегулювальних систем у щурів, які отримали дихлорид ртуті у дозі 5,0 мг/кг маси тіла, відмічалось різке зростання активності реніну і концентрації альдостерону в плазмі крові.

Порушення функціонального стану нирок при кадмієвій інтоксикації також супроводжувалось активацією ренін-ангіотензин-

альдостеронової системи, про що свідчило двократне збільшення активності реніну плазми і концентрації альдостерону в плазмі крові.

Таким чином, первинним пошкоджувальним ефектом усіх вивчених хлоридів важких металів є порушення діяльності проксимальних ниркових канальців, що проявляється у зменшенні проксимального транспорту натрію в умовах водного діурезу. При цьому встановлена закономірна активація PAC.

Враховуючи, що для ішемічного і постішемічного пошкодження органів типовим механізмом є активація перекисного окиснення ліпідів, ми досліджували вміст у нирковій тканині дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, а також активність супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази як основних ферментів антиоксидантного захисту. Встановлено, що при вивчених металотоксикозах збільшувався вміст у кортикальній тканині нирок дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду, що супроводжувалось зниженням активності супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази.

ВИСНОВКИ. 1. Підсумовуючи отримані дані, слід зауважити, що загальними закономірностями патогенетичної дії важких металів на нирки є первинне переважання пошкодження проксимального відділу нефрону із зниженням його функції, що також формує комплекс захисно-приспосувальних реакцій на рівні нирок.

2. Провідним механізмом цього є активація тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку за рахунок підвищення активності PAC, що призводить при значній активації до переростання захисної реакції в пошкоджувальну з розвитком ішемії кіркової речовини нирок та ініціювання механізмів перекисного окиснення ліпідів.

3. Включення останніх значно підвищує рівень пошкодження нирок.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гоженко А.И. Некоторые общие закономерности формирования патологического процесса в почках // Труды VIII Всесоюз. конфер. по физиологии почек водно-солевого обмена. – Харьков, 1989. – 50 с.
2. Жаворонков А.А. Микроэлементозы ятрогенного происхождения // Арх. патол. – 1991. – 53, № 11. – С. 73-76.

3. Османов И.М. Роль тяжелых металлов в формировании заболеваний органов мочевой системы // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. – 1996. – № 1. – С. 36-40.

4. Роговий Ю.Є. Закономірності формування патології проксимального відділу нефрону під дією ксенобіотиків // Труды наук. конф. “Медико-екологічні проблеми охорони здоров'я в Україні”. –

Чернівці, 1994. – 51 с.

5. Сердюк А.М., Бобильова О.О., Набока М.В. Медична політика в галузі охорони здоров'я населення після Чорнобильської катастрофи // Укр. радіол. журн. – 1996. – 4, №1.-С. 7-11.

6. Чала К.М. Вплив хлористих сполук талію, кадмію і свинцю на кислотно-лужний гомеостаз організму: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.04. / Чернівецький держ. університет ім. Ю. Федьковича. – Чернівці, 1997. – 16 с.

ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НЕФРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КАДМИЯ, ТАЛЛИЯ, ПЛАТИНЫ И РТУТИ

В.Н. Магальяс, К.Г. Ташук, М.М. Радько, Р.И. Рудницкий, М.Д. Перепелиук
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

В результате исследования установлено, что общей закономерностью нефротоксичности тяжелых металлов есть первичное повреждение проксимальных канальцев нефрона со снижением его функции, что формирует комплекс защитно-приспособительных реакций на уровне почек. Главным звеном этого есть активация тубуло-гломерулярной обратной связи за счет повышения активности ренин-ангиотензионосовой системы, что приводит при значительной активации к переходу защитной реакции в повреждающую с развитием ишемии коркового вещества почек и активации перекисного окисления липидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **тяжелые металлы, почки, токсичность.**

THE GENERAL SPECIFIC CHARACTERISTICS OF NEPHROTOXIC ACTION OF CADMIUM, THALLIUM, PLATINUM AND MERCURY

V.N. Magalyas, K.G. Tashchuk, M.M. Radko, R.I. Rudnytskyi, M.D. Perepeliuk
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The findings show that the general regularity of heavy metal nephrotoxicity is the primary injury of nephron proximal tubule with the lowering of its function, that forms the protective-adaptive complex of reaction on the renal level. Its main link is a tubulo-glomerular inverse connection activation as a result of increase of RAS activity, that at significant activation leads to the change of the protective reaction into damaging one, with further cortical renal substance ischemia development and initiation of lipid peroxidation.

KEY WORDS: **heavy metals, kidneys, toxicity.**

Отримано 16.12.2002 р.

Адреса для листування: В.М. Магальяс, вул. Б. Хмельницького, 21/3, Чернівці, 58000, Україна.

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І ХОЛІНЕРГІЧНІ МЕХАНІЗМИ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ З РІЗНОЮ РЕЗИСТЕНТНІСТЮ ДО ГІПОКСІЇ

А.М. Пришляк, В.В. Файфура, В.Б. Коваль

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Виявлено залежність між резистентністю щурів до гіпоксії та інтенсивністю ПОЛ у стовбурі мозку. У високорезистентних тварин рівень ПОЛ нижчий. У них знижені, порівняно з контролем, активність супероксиддисмутази і вміст SH-груп та збільшений вміст SS-груп. Високорезистентні тварини характеризуються меншим вмістом ацетилхоліну і вищою холінергетичною активністю тканини мозку.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, холінергетика, перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Доведено, що тварини, зокрема щури, істотно відрізняються за індивідуальною резистентністю до гіпоксії [6, 8]. Ці відмінності мають під собою метаболічну основу [10, 15]. Головний мозок високорезистентних тварин характеризується інтенсивним гліколізом і високою активністю дихальних ферментів, що дозволяє синтезувати макроерги при мінімальних затратах кисню і максимально утилізувати його з гіпоксемічної крові.

Особливості індивідуальної резистентності значною мірою зумовлені спадково, але вони залежать також від факторів зовнішнього середовища: часу доби [1, 14], пори року [1, 15], характеру харчування. У процесах адаптації до гіпоксії важлива роль належить нервовій системі, яка відзначається інтенсивним обміном речовин, а отже, і високою чутливістю до нестачі кисню. Тому головний мозок є вдалим об'єктом для вивчення реакцій пристосування до гіпоксії. Адаптація організму до зовнішнього середовища залежить від стану процесів ПОЛ, а зміни функціонального стану біомембран, які з ним пов'язані, мають значення в діяльності холінергічних систем [9]. Метою наших досліджень було дати оцінку процесам ПОЛ і холінергічним механізмам у головному мозку тварин з різною резистентністю до гіпоксії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 152 безпородних білих щурах масою 200-230 г. Для експерименту брали тільки самців, щоб уникнути впливу естральних циклів у

© А.М. Пришляк – к.мед.н., В.В. Файфура – д.мед.н., проф., В.Б. Коваль, 2003.

самок. Резистентність тварин до гіпоксії визначали за методикою В.А. Березовського [5]. Процеси ПОЛ оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду [12, 13], а стан антиоксидної системи – за активністю супероксиддисмутази [7], вмістом α -токоферолу [16] та SH- і SS-груп [3] у стовбуровій частині головного мозку. Вміст ацетилхоліну в гомогенатах стовбурового відділу головного мозку визначали біологічним методом [17]. Активність холінергетиками визначали фотоелектроколориметричним методом [11] і виражали кількістю ацетилхоліну, розщепленого тканиною мозку за 1 год в перерахунку на 1 кг свіжої маси.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У тварин, які відрізняються за уродженою резистентністю до нестачі кисню, виявлено різну інтенсивність процесів ПОЛ, що можна оцінювати за нагромадженням дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду. В стовбурі головного мозку низькорезистентних до гіпоксії щурів вміст дієнових кон'югатів був вищим, порівняно з високостійкими, на 38,6 % ((0,149 \pm 0,002) ммоль/кг проти (0,108 \pm 0,003) ммоль/кг, $p < 0,001$), а вміст малонового діальдегіду – на 32,1 % ((1,380 \pm 0,052) ммоль/кг проти (1,060 \pm 0,065) ммоль/кг, $p < 0,01$).

У здоровому організмі підтримується цілком певний стаціонарний рівень ПОЛ, він вважається одним із головних механізмів регуляції стану біологічних мембран. Отримані нами результати свідчать про те, що існує певна залежність між уродженою резистентністю до гіпоксії і рівнем ПОЛ у стовбурі мозку.

Низька резистентність до гіпоксії поєднується з високою інтенсивністю ПОЛ, а для тварин із високою резистентністю до гіпоксії характерний низький рівень ПОЛ. Ці результати узгоджуються з уявленнями про те, що високий рівень ПОЛ властивий клітинам з активним метаболізмом. Отже, можна припустити, що процеси пероксидації в головному мозку беруть певну участь у механізмах формування уродженої резистентності до гіпоксії, а саме: високий рівень ПОЛ зумовлює високу чутливість до гіпоксії і, навпаки, при низькому рівні ПОЛ створюються умови для забезпечення більш високої резистентності до гіпоксії.

Процеси ПОЛ, які нормально перебігають, контролюються на всіх стадіях їх перебігу компонентами антиоксидної системи. Ключовим ферментом цієї системи є супероксиддисмутаза. У наших дослідах виявлено неоднакову активність супероксиддисмутази у низько- і високорезистентних до гіпоксії тварин. У низькорезистентних, порівняно з високорезистентними, її активність виявилася вищою на 11 % ((0,42±0,01) од. проти (0,38±0,01) од., $p < 0,02$). Це можна пов'язати з інтенсивнішим нагромадженням продуктів пероксидації ліпідів у низькорезистентних тварин, що вимагає вищої активності ферментів, які беруть участь у їх руйнуванні.

Вміст α -токоферолу в гомогенатах мозку обох груп щурів виявився практично однаковим. Головна функція його полягає у стабілізації ліпідного бішару мембран. Однаковий рівень його у низько- і високорезистентних тварин вказує лише на те, що різна інтенсивність ПОЛ у них є індивідуальною груповою нормою і не супроводжується пошкодженням мембран.

З'ясовано також, що низько- і високорезистентні до гіпоксії щури відрізняються за вмістом SH- і SS-груп у стовбурі головного мозку. У високорезистентних тварин вміст SH-груп у гомогенаті мозку був нижчим, ніж у низькорезистентних, в 1,9 раза ((4,97±

±0,28) мкмоль/кг проти (9,20±0,28) мкмоль/кг, $p < 0,001$), зате вміст SS-груп, навпаки, був вищим в 1,4 раза ((1,84±0,12) мкмоль/кг проти (1,29±0,09) мкмоль/кг, $p < 0,01$). Сульфгідрильні групи проявляють як прооксидний, так і антиоксидний ефект. Прооксидний ефект зумовлений їх здатністю відновлювати метали із змінною валентністю в процесі індукції активних форм кисню, що супроводжується зниженням вмісту сульфгідрильних груп внаслідок їх окиснення до дисульфідів.

Нами виявлена залежність між резистентністю тварин до гіпоксії та інтенсивністю холінергічних процесів у мозку. Зокрема, вміст ацетилхоліну в мозку низькорезистентних до гіпоксії щурів був вищим, ніж у високорезистентних, ((25,1±2,0) мкмоль/кг проти (19,2±1,9) мкмоль/кг, $p < 0,05$). Холінергічна активність, навпаки, була вищою у високорезистентних тварин на 17 % ((114,0±1,7) ммоль/(кг·год) проти (94,3±1,3) ммоль/(кг·год), $p < 0,001$). Отже, існує певна кореляція між інтенсивністю ПОЛ і показниками функціонування холінергічних систем мозку. Збільшення вмісту ацетилхоліну в стовбурі мозку можна розглядати як компенсаторну реакцію у тварин з більш інтенсивною пероксидацією ліпідних компонентів клітинних мембран. Ацетилхолін проявляє киснезберігаючу дію, але за умов інтенсивного метаболізму в мембранах ця властивість його не може проявитися.

ВИСНОВКИ. 1. У стовбурі мозку високорезистентних до гіпоксії щурів інтенсивність ПОЛ і активність супероксиддисмутази нижчі, ніж у низькорезистентних тварин.

2. Вміст SH-груп у мозку високорезистентних тварин в 1,9 раза менший, а SS-груп у – 4 раза більший, порівняно з низькорезистентними щурами.

3. У стовбурі мозку високорезистентних тварин вміст ацетилхоліну менший, а активність ацетилхолінергічних процесів вища, порівняно з низькорезистентними щурами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Торшин В.И., Старых В.Е. Сезонные особенности циркадианной ритмики гипоксической резистентности и судорожной устойчивости // Бюл. эксперим. биол. – 1992. – **114**, № 11. – С. 523-525.

2. Алыбаев А.М., Бобков Ю.Г., Лосев А.С. Участие холинергических систем в периоде восстановления после острой гипобарической гипоксии // Бюл. эксперим. биол. – 1987. – **104**, № 10. – С. 466-469.

3. Веревкина Н.В., Точилкин А.И., Попова Н.А.

Колориметрический метод определения SH-груп и SS-связей в белках при помощи 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 223-231.

4. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности / Под ред. В.А. Березовского. – К.: Наукова думка, 1978. – 215 с.

5. Гичев Ю.П., Гусева Э.О., Грек О.Р., Шарпов В.И. Фармакокинетика антипирина у крыс с различным типом устойчивости к гипоксии при холо-

довом стрессе // Бюл. эксперим. биол. – 1998. – **126**, № 11. – С. 513-515.

6. Горячева Т.В., Дудченко А.М., Спасская М.Е. и др. Различия гормонального статуса у высоко- и низкоустойчивых к гипоксии крыс // Бюл. эксперим. биол. – 1993. – **116**, № 7. – С. 46-48.

7. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-33.

8. Дудченко А.М., Чернобаева Г.Н., Белоусова В.В. и др. Биоэнергетические параметры мозга крыс с разной резистентностью к гипоксии // Бюл. эксперим. биол. – 1993. – **115**, № 3. – С. 251-253.

9. Зацепин Э.П., Чураев Н.Н. Влияние центральных холинолитиков на процесс перекисного окисления липидов // Бюл. эксперим. биол. – 1987. – **104**, № 8. – С. 195-197.

10. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетические аспекты индивидуальной резистентности к гипоксии при адаптации // Нарушения механизмов регуляции и их корреляция: Тез. докл. IV Всесоюзного съезда патофизиологов. – М., 1989. – **2**. – С. 615-616.

11. Пушкина Н.Н., Климкина Н.В. Биохимические методы исследования. – М.: Наука, 1963. – 223 с.

12. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тио-

барбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

13. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64.

13. Хачатурьян М.Л., Панченко Л.А., Занина Е.Н. и др. Изменение устойчивости к гипоксии у крыс в течение дневного периода суток // Бюл. эксперим. биол. – 1999. – **127**, № 3. – С. 256-260.

15. Чернобаева Г.Н., Лукьянова Л.Д. Роль индивидуальной резистентности к гипоксическому фактору при поиске антигипоксантов и оценке эффективности их действия // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Сборник трудов Института фармакологии АМН СССР. – М., 1989. – С. 160-164.

16. Чернулкенс Р.Ч., Грибаускас Л.С. Одновременное флюорометрическое определение концентрации витаминов А и Е в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1984. – № 6. – С. 362-365.

17. Tuček S., Diepold F. The metabolism of acetylcholine in the brain in experimental hyperthyroidism // Physiol. Bohemoslovenica. – 1963. – **12**, № 3. – P. 258-262.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ХОЛИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К ГИПОКСИИ

А.М. Пришляк, В.В. Файфура, В.Б. Коваль

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Выявлена зависимость между резистентностью крыс к гипоксии и интенсивностью ПОЛ в стволе мозга. У высокорезистентных животных уровень ПОЛ ниже. У них, по сравнению с контролем, снижена активность супероксиддисмутазы, содержание SH-групп и повышено содержание SS-групп. Высокорезистентные животные характеризуются более низким содержанием ацетилхолина и более высокой холинэстеразной активностью ткани мозга.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксия, холинэстераза, перекисное окисление липидов.

LIPID PEROXIDATION AND CHOLINERGIC MECHANISMS IN THE BRAIN OF RATS WITH DIFFERENT RESISTANCE TO HYPOXIA

A.M. Pryshlyak, V.V. Faifura, V.B. Koval

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

It was revealed the dependence between the resistance of rats to hypoxia and intensity of lipid peroxidation (LP) in the brain stem. The level of LP in the highly-resistant animals is lower. Their superoxidisedismutase activity is decreased, the content of SS-groups is increased, SH-group content is decreased in comparison with the control. Highly-resistant animals are characterised by the lower content of acetylcholine and higher cholinesterasic activity of the brain tissue.

KEY WORDS: hypoxia, cholinesterase, lipid peroxidation.

Отримано 04.03.2002 р.

Адреса для листування: А.М. Пришляк, кафедра анатомії людини, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ЛИСТІ БУЗКУ ЗВИЧАЙНОГО (SYRINGA VULGARIS)

В.В. Король

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведений фітохімічний аналіз показав наявність в листі бузку звичайного флавоноїдів, оксикоричних кислот, кумаринів, алкалоїдів, дубильних речовин, сапонінів, іридоїдів, амінокислот. За допомогою паперової хроматографії з достовірними зразками ідентифіковано кемпферол, кверцетин, хлорогенову, ферулову і кофейну кислоти. Визначено кількісний вміст флавоноїдів, оксикоричних кислот і дубильних речовин у досліджуваній сировині.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: якісні реакції, хроматографічний аналіз, кількісне визначення, флавоноїди, оксикоричні кислоти, дубильні речовини, бузок звичайний.

ВСТУП. Отримання нових лікарських засобів на основі рослинної сировини, які мають протизапальну дію, одне з найважливіших питань сучасної фармації. Для лікування ревматизму, ревматоїдного артриту, подагри, захворювань органів дихання з давніх часів використовувалися рослини роду бузок [2, 4, 5, 8, 10].

Рід бузок (*Syringa*) належить до родини маслинових (*Oleaceae*) та включає 31 вид. Найбільш поширений бузок звичайний (*Syringa vulgaris*). В Україну і Росію його вперше завезли в кінці XVIII ст., де він розповсюдився [1, 9, 10].

Бузок звичайний в офіційній медицині не використовується, але знайшов своє застосування в народній медицині, косметології, дерматології. Найчастіше застосовуються квітки та листя, зокрема при захворюваннях суглобів, невралгіях, гнійних ранах, головному болю [2, 5, 6, 7]. Літературні дані свідчать про широке культивування бузку звичайного і його видів, але хімічний склад вивчено недостатньо [1, 4, 9, 11].

З метою пошуку нових джерел лікарської рослинної сировини об'єктом дослідження ми обрали листя бузку звичайного. Сировину для дослідження заготовляли в липні-серпні 2001 р. у м. Харкові.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для вивчення якісного вмісту досліджуваної сировини експериментально встановлено оптимальну концентрацію спирту для екстрагування – 50 % розчин етанолу.

© В.В. Король – к.фарм.н., 2003.

Якісний вміст водних та спирто-водних екстрактів листя бузку звичайного на наявність різних природних сполук перевіряли за допомогою загальновідомих хімічних реакцій ідентифікації та вивчали його методом двомирної хроматографії в системі розчинників:

- н-бутанол – оцтова кислота – вода (БОВ) (4:1:2) (A) – I напрямком;
- 15 % оцтова кислота (B) – II напрямком;
- 15 % оцтова кислота (C);
- хлороформ – оцтова кислота – вода (13:6:2) (D);
- 2 % оцтова кислота (E);
- хлороформ – метанол (3:7) (F).

Якісними реакціями підтверджено наявність флавоноїдів, кумаринів, алкалоїдів, дубильних речовин конденсованої групи, стероїдних сапонінів, амінокислот, іридоїдів.

Хроматографічний аналіз дозволив виявити у спирто-водній витяжці з листя бузку звичайного 14 речовин, переважно представлених оксикоричними кислотами та флавоноїдними глікозидами.

Ідентифікацію агліконів флавоноїдних глікозидів виконували після попереднього проведення кислотного гідролізу 10 % розчином сірчаної кислоти. Аглікони флавоноїдів після гідролізу екстрагували з гідролізатів етилацетатом. Етилацетатні фракції хроматографували на папері у системі D з достовірними зразками флавоноїдів. За результатами хроматографічного аналізу у листі бузку звичайного було ідентифіковано кверцетин і кемпферол [3].

Оксикоричні кислоти вивчали методом паперової хроматографії у системах C і E. В

результаті досліджень ідентифікували ферулову, хлорогенову і кофейну кислоти.

Кількісне визначення оксикоричних кислот у листі бузку звичайного проводили спектрофотометричним методом за методикою, розробленою сектором молекулярно-спектроскопічних методів аналізу ДНЦЛЗ, яка була наведена у ТФС "Трава еригерону канадського" (42-У-6/37-323-96). Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 327 нм у кюветях з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми оксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту визначали за формулою:

$$X = \frac{D_1 \times 200 \times 50 \times 100}{\epsilon_{1\text{ см}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)},$$

де D_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

m – наважка сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %;

$\epsilon_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531.

Результати кількісного визначення оксикоричних кислот представлено в таблиці 1.

Кількісне визначення флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину розчинів вимірювали при довжині хвилі 410 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі СФ-46.

Точну наважку листя бузку звичайного екстрагували 50 % спиртом 30 хв в колбі зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані. Охолоджену колбу зважували і доводили до первинної маси 50 % спиртом. 3 мл фільтрату вміщували в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 5 мл 2,5 % розчину алюмінію

хлориду в 25 % спирті та 1 краплю концентрованої хлористоводневої кислоти і об'єм розчину доводили 50 % спиртом до мітки. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину при довжині хвилі 410 нм. Розчином порівняння був розчин суміші 3 мл витяжки, 1 краплини розведеної хлористоводневої кислоти, доведений 95 % спиртом до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл. Паралельно в цих же умовах вимірювали оптичну густину розчину, що вміщує 1 мл 0,005 % розчину стандартного зразка рутину, який готували аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів (x , %) в перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$x = \frac{D \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 100 \times 3 \times 25 \times (100 - W)} = \frac{D \times m_0 \times 10 \times 1000}{D_0 \times m \times 3 \times (100 - W)},$$

де D – оптична густина досліджуваного розчину;

D_0 – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

m – маса сировини, г;

m_0 – маса рутину, г;

W – вологість сировини, %.

Результати кількісного визначення флавоноїдів у листі бузку звичайного наведено в таблиці 2.

Кількісне визначення дубильних речовин у листі бузку звичайного проводили за методикою, наведеною в ГФ XI. 2 г (точна наважка) подрібненої сировини, просіяної крізь сито з діаметром отворів 3 мм, вміщували у конічну колбу на 500 мл, заливали 250 мл кип'яченої води та кип'ятили зі зворотним холодильником

Таблиця 1 – Вміст оксикоричних кислот в листі бузку звичайного

X_i	X_{cp}	$X_i - X_{cp}$	$(X_i - X_{cp})^2$	Метрологічні характеристики (n=5, p=0,95)
7,40	7,40	0	0	$\sigma^2 = \sum_i (X_i - X_{cp})^2 / n - 1 = 0,00025$ $\sigma = \sqrt{\sigma^2} = 0,0158$ $\sigma_{X_{cp}} = \sigma / \sqrt{n} = 0,007$ $I_p = \sigma_{X_{cp}} \cdot t_{\alpha} = 0,019$ $A = I_p \cdot 100 / X_{cp} = 0,25 \%$ $a = 7,400 \pm 0,019$
7,42		0,02	0,0004	
7,38		-0,02	0,0004	
7,41		0,01	0,0001	
7,39		-0,01	0,0001	

Таблиця 2 – Вміст флавоноїдів в листі бузку звичайного

X_i	X_{cp}	$X_i - X_{cp}$	$(X_i - X_{cp})^2$	Метрологічні характеристики (n=5, p=0,95)
1,73	1,71	0,02	0,0004	$\sigma^2 = \sum_i (X_i - X_{cp})^2 / n - 1 = 0,0002$ $\sigma = \sqrt{\sigma^2} = 0,0141$ $\sigma_{X_{cp}} = \sigma / \sqrt{n} = 0,0063$ $I_p = \sigma_{X_{cp}} \cdot t_{\alpha} = 0,0175$ $A = I_p \cdot 100 / X_{cp} = 1,027 \%$ $a = 1,71 \pm 0,01$
1,70		-0,01	0,0001	
1,71		0	0	
1,72		0,01	0,0001	
1,73		0,02	0,0004	

на електроплитці протягом 30 хв, періодично перемішуючи. Розчин охолоджували до кімнатної температури та проціджували 100 мл у конічну колбу на 200-250 мл крізь вату. Піпеткою відбирали 25 мл отриманої витяжки в другу конічну колбу місткістю 750 мл, додавали 500 мл води, 25 мл розчину індігосульфокислоти і титрували при постійному збовтуванні розчином перманганату калію (0,02 моль/л) до появи золотисто-жовтого забарвлення. Паралельно проводили контрольний дослід. Вміст дубильних речовин (X) у відсотках в перерахунку на абсолютно суху сировину визначали за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \times K \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 250 \times (100 - W)},$$

Таблиця 3 – Вміст дубильних речовин в листі бузку звичайного

X_i	X_{cp}	$X_i - X_{cp}$	$(X_i - X_{cp})^2$	Метрологічні характеристики (n=5, p=0,95)
12,030	12,030	0	0	$\sigma^2 = \sum_i (X_i - X_{cp})^2 / n - 1 = 0,0000077$ $\sigma = \sqrt{\sigma^2} = 0,0027$ $\sigma_{X_{cp}} = \sigma / \sqrt{n} = 0,00124$ $I_p = \sigma_{X_{cp}} \cdot t_\alpha = 0,003$ $A = I_p \cdot 100 / X_{cp} = 0,028 \%$ $a = 12,030 \pm 0,003$
12,032		0,002	0,000004	
12,027		-0,003	0,000009	
12,033		0,003	0,000009	
12,033		0,003	0,000009	

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В результаті фітохімічних досліджень листя бузку звичайного було обрано оптимальний екстрагент для досліджуваної сировини – 50 % етанол. Результати фітохімічного аналізу показали багатий та різноманітний склад біологічно активних речовин. Отримані результати якісних реакцій, хроматографічного аналізу та кількісного визначення дають підставу для подальшого вивчення цієї рослини з метою створення лікарських засобів протизапальної дії.

ВИСНОВКИ. 1. Проведено фітохімічний аналіз біологічно активних речовин у листі бузку звичайного і встановлено наявність флаво-

де V – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л), витраченого на титрування витяжки, мл;

V_1 – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л), витраченого на титрування в контрольному досліді, мл;

K – кількість дубильних речовин, яка відповідає 1 мл розчину перманганату калію (0,02 моль/л) (в перерахунку на танін), г: для гідролізуючих дубильних речовин – 0,004157, для конденсованих – 0,00582;

m – маса сировини, г;

W – втрата маси при висушуванні сировини, %;

250 – загальний об'єм витяжки, мл;

25 – об'єм витяжки, взятої для титрування, мл.

Результати кількісного визначення дубильних речовин представлено в таблиці 3.

ноїдів, оксикоричних кислот, кумаринів, дубильних речовин, алкалоїдів, сапонінів, іридоїдів, амінокислот.

2. Методом паперової хроматографії в листі бузку звичайного ідентифіковано кемпферол, кверцетин, ферулову, хлорогенову та кофейну кислоти.

3. Визначено кількісний вміст оксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин в листі бузку звичайного.

4. Результати проведених досліджень свідчать про багатий та різноманітний склад біологічно активних речовин у листі бузку звичайного, що доводить перспективу вивчення цієї рослини та можливість розробки лікарських засобів протизапальної дії на її основі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аксенов Е.С., Аксенова Н.А. Декоративные растения: деревья и кустарники. – М.: Энциклопедия природы России, 1997. – 426 с.

2. Бендер А.И., Гоминок Г.Н., Фредман С.Л. Указатель по применению лекарственных растений в научной и народной медицине. – Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1998. – 110 с.

3. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.В. Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд., 1999. – 333 с.

4. Дикорастущие полезные растения / Под ред. А.А. Буданцева. – С.Пб., 2001. – 402 с.

5. Иванов В.И. Лекарственные средства в на-

родной медицине. – М.: Воениздат, 1992. – 448 с.

6. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Гриненко Н.А. и др. Иридоиды коры *Syringa vulgaris* // Химия природн. соедин. – 1990. – № 5. – 695 с.

7. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Під ред. А.М. Гродзинського. – К.: Українська енциклопедія, 1992. – 544 с.

8. Мицкеян А.И. Иридоидные гликозиды. – Ереван, 1980. – 264 с.

9. Растительные ресурсы России и сопредельных государств / Под ред. А.Л. Буданцева. – С.Пб.: Мир и семья-95, 1996. – 397 с.

10. Рубцов Л.И., Михайлов Н.Л., Жоголева В.Г. Виды и сорта сирени, культивируемые в СССР. – К.: Наук. думка, 1980. – 125 с.

11. Чарис Ш., Фишбейн Л., Вагман Д. и др. Хроматография. Практическое применение метода: В 2 ч. / Пер. с англ. под ред. Э. Хефтмана. – М.: Мир, 1986. – Ч. 2. – 416 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*SYRINGA VULGARIS*)

В.В. Король

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Проведенный фитохимический анализ показал наличие в листьях сирени обыкновенной флавоноидов, оксикоричных кислот, кумаринов, алкалоидов, дубильных веществ, сапонинов, иридоидов, аминокислот. С помощью бумажной хроматографии с достоверными образцами идентифицировано кемпферол, кверцетин, хлорогеновую, феруловую и кофейную кислоты. Определено количественное содержание флавоноидов, оксикоричных кислот и дубильных веществ в исследуемом сырье.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **качественные реакции, хроматографический анализ, количественное определение, флавоноиды, оксикоричные кислоты, дубильные вещества, сирень обыкновенная.**

RESEARCH OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN LEAVES OF BLUEASH (*SYRINGA VULGARIS*)

V.V. Korol

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

Conducted phytochemical analysis has shown the availability of flavonoids, oxycinnamic acids, kumarins, alkaloids, tannic substances, saponins, iridoids, aminoacids in blueash leaves. By method of paper chromatography with authentic samples identified cempferol, quercetin, chlorogenic, ferulic and coffee acids. The quantitative contents of flavonoids, oxycinnamic acids and tannic substances in the studied raw material is determined.

KEY WORDS: **qualitative tests, chromatographic analysis, quantitative determination, flavonoids, oxycinnamic acids, tannic materials, syringa vulgaris.**

Отримано 25.11.2002 р.

Адреса для листування: В.В. Король, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 27, Харків, 61002, Україна.

СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У НЕДОНОШЕНИХ ДІТЕЙ ІЗ ВНУТРІШНЬОУТРОБНИМИ ІНФЕКЦІЯМИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВИДУ ВИГОДОВУВАННЯ

Халед Хамзе Хасан

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Проведено дослідження стану перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у новонароджених недоношених дітей з внутрішньоутробними інфекціями залежно від ступеня недоношеності та виду вигодовування. Виявлено значну активацію ПОЛ у хворих дітей, яка залежала від ступеня недоношеності та виду вигодовування. У недоношених дітей з внутрішньоутробними інфекціями, які перебували на штучному вигодовуванні спеціальною молочною сумішшю "Alprem", процеси ПОЛ були менш вираженими, ніж у дітей, яких вигодовували звичайною адаптованою сумішшю "Малютка".

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів, недоношені діти з внутрішньоутробними інфекціями, грудне і штучне вигодовування.

ВСТУП. Нормальне функціонування організму значною мірою залежить від стану цитоплазматичних мембран. Структурна і функціональна дезорганізація мембранних утворень, яка виникає під впливом різних чинників, сприяє розвитку багатьох захворювань [1, 3, 6].

Головне місце серед чинників, які пошкоджують мембрани, належить активації ПОЛ. Останнє чинить великий вплив на проникність мембран, іонні градієнти і пов'язане з біохімічними та фізіологічними процесами [2, 5, 7].

Одним з найбільш об'єктивних маркерів активації вільнорадикального окиснення ліпідів є проміжний продукт ПОЛ – малоновий діальдегід (МДА), за допомогою якого можна оцінювати вираження патологічного процесу.

Метою нашого дослідження було вивчити стан ПОЛ у недоношених дітей із внутрішньоутробними інфекціями (ВУІ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під спостереженням перебувало 56 новонароджених недоношених дітей з внутрішньоутробними інфекціями та 30 умовно-здорових недоношених дітей без внутрішньоутробної інфекції.

Серед хворих дітей I ступінь недоношеності діагностовано у 21 (37,5 %), II – у 18 (32,1 %), III – у 16 (28,6 %). Недоношеність I ступеня виявлено в 11 умовно-здорових недоношених дітей, (36,7 %), II ступеня – в 10 (33,3 %), III ступеня – в 9 (30 %).

Серед хворих недоношених дітей 20 (35,7 %) вигодовувались грудним молоком, 18 © Халед Хамзе Хасан – MD, MPh, 2003.

(32,1 %) – звичайною адаптованою сумішшю "Малютка", 18 (38,1 %) – спеціальною сумішшю для недоношених дітей "Alprem".

Грудне материнське молоко отримували 10 дітей умовно-здорових дітей (33,3 %), суміші "Малютка" і "Alprem" – по 10 дітей у кожній групі (по 33,3 % відповідно).

Рівень малонового діальдегіду визначали за допомогою тіобарбітурової кислоти. Принцип методу полягає у тому, що при високій температурі в кислому середовищі МДА реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметановий комплекс, який містить одну молекулу МДА і дві молекули тіобарбітурової кислоти з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм [4].

Білки гомогенату осаджували трьохословою кислотою в кінцевій концентрації 5 %. Надосадову рідину інкубували з 0,8 % розчином тіобарбітурової кислоти в киплячій водянній бані 10 хв і після осадження спектрофотометрували (СФ-16) при довжині хвилі 532 нм проти контрольної проби на реактиви.

З метою розрахунку використовували молярний коефіцієнт поглинання для МДА – $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [8]. Концентрацію виражали в мкмоль/л.

Результати дослідження опрацьовували методами варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати наших досліджень показали, що у недоношених дітей із внутрішньоутробними інфекціями відмічається значна активація ПОЛ (табл. 1)

Отримані дані вказують на те, що в умовно-здорових недоношених дітей найбільш інтенсивно процеси ПОЛ проходять при недоношеності I ступеня. Це можна пояснити більшою зрілістю дітей з недоношеністю I ступеня та наявністю достатньої кількості основних класів фосфоліпідів у мембранах клітин.

У дітей з недоношеністю II ступеня, очевидно, процеси ПОЛ також активуються значною мірою, однак недостатня кількість субстрату, на якому проходить активація ПОЛ, при дослідженні дає більш низькі показники.

Аналогічно можна пояснити ці зміни і при недоношеності III ступеня. Даний факт підтверджений ультраструктурними дослідженнями лімфоцитів периферичної крові, в ході яких було виявлено, що при збільшенні ступеня недоношеності мембранодеструктивні зміни поглиблюються.

Аналіз результатів дослідження вмісту МДА в периферичній крові хворих дітей показав, що активація процесів ПОЛ значно зростає при наявності внутрішньоутробної інфекції.

Так, у дітей з недоношеністю I ступеня і ВУІ вміст МДА в крові був в 1,7 раза вищим, ніж в умовно здорових дітей з даним ступенем недоношеності, у хворих з недоношеністю II ступеня і ВУІ – у 2,3 раза порівняно з умовно-здоровими дітьми з II ступенем недоношеності, у дітей з недоношеністю III ступеня і ВУІ – в 1,9 раза більшим, ніж в умовно-здорових дітей з недоношеністю III ступеня.

Отримані дані свідчать про те, що у хворих недоношених дітей в патологічний процес

втягаються практично всі біологічні мембрани. За даними літератури, при цій патології включаються компенсаторні, захисні та адаптаційні механізми, що в кінцевому результаті при їх виснаженні призводить до декомпенсації.

При вивченні залежності стану процесів ПОЛ від виду вигодовування було виявлено переваги грудного вигодовування та годування спеціальною молочною сумішшю "Alprem" над звичайною адаптованою молочною сумішшю "Малютка" (табл. 2).

Аналіз одержаних результатів показав, що у дітей, які отримували грудне молоко, активація ПОЛ була виражена меншою мірою, ніж у немовлят, які вигодовувались сумішшю "Малютка". Вміст МДА у дітей, які вигодовувались сумішшю "Alprem", був близьким до його вмісту у дітей, які перебували на грудному вигодовуванні.

З материнським молоком дитина отримує фактори антиоксидного захисту, які відсутні в штучних сумішах. Механізм антиоксидної дії суміші "Alprem", очевидно, має інший напрямок. Він пов'язаний, на нашу думку, з нормалізацією обміну речовин, особливо ліпідного, зменшенням ендогенної інтоксикації, що позитивно впливає на процеси вільно-радикального окиснення.

ВИСНОВКИ. 1. У недоношених дітей із внутрішньоутробними інфекціями відмічається значна активація перекисного окиснення ліпідів.

2. Глибина порушень ліпідного обміну у хворих дітей залежить від ступеня недоношеності.

Таблиця 1 – Вміст МДА в периферичній крові недоношених дітей з внутрішньоутробними інфекціями залежно від ступеня недоношеності (M±m)

Показник	Умовно-здорові діти			Хворі діти		
	ступінь недоношеності			ступінь недоношеності		
	I (n-21)	II (n-18)	III (n-16)	I (n-11)	II (n-10)	III (n-9)
МДА, мкмоль/л	4,59±0,24	3,71±0,21 p ₁₋₂ <0,05	3,39±0,24 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ >0,05	7,63±0,19***	7,95±0,26*** p ₁₋₂ >0,05	6,36±0,34*** p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001

Примітка. p₁₋₂ – достовірність відмінностей між показниками у дітей з I і II ступенями недоношеності; p₁₋₃ – достовірність відмінностей між показниками у дітей з I і III ступенями недоношеності; p₂₋₃ – достовірність відмінностей між показниками у дітей з II і III ступенями недоношеності. *** – достовірність відмінностей між показниками відповідних ступенів недоношеності здорових і хворих дітей, p<0,001.

Таблиця 2 – Вміст МДА в периферичній крові умовно здорових і хворих недоношених дітей залежно від виду вигодовування (M±m)

Показник	Вид вигодовування		
	Грудне молоко (n-20)	Суміш "Малютка" (n-18)	Суміш "Alprem" (n-18)
МДА, мкмоль/л	6,79±0,21***	7,97±0,32*** p ₁₋₂ <0,001	7,12±0,26*** p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ <0,05

Примітка. p₁₋₂ – достовірність відмінностей між показниками у дітей, які вигодовувались грудним молоком і сумішшю "Малютка"; p₁₋₃ – достовірність відмінностей між показниками у дітей, які вигодовувались грудним молоком і сумішшю "Alprem"; p₂₋₃ – достовірність відмінностей між показниками у дітей, які вигодовувались сумішами "Малютка" та "Alprem"; *** – достовірність відмінностей між показниками у хворих і умовно здорових дітей з відповідним ступенем недоношеності.

3. У недоношених дітей з ВУІ, які перебігали на штучному вигодовуванні, відмічено переваги спеціальної молочної високоадаптованої суміші

“Alprem” над звичайною молочною адаптованою сумішшю “Малютка” щодо впливу на процеси вільнорадикального окиснення ліпідів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гайдей В.Р. Зіставлення клініки гострих пневмоній з процесами ПОЛ у дітей раннього віку на фоні гіпотрофії і рахіту // ПАГ. – 1994. – № 3. – С. 32-33.

2. Плужников М.С., Иванов Б.С., Жуманкулов М.С. Клиническое значение процессов перекисного окисления липидов: Обзор // Вестн. оториноларингол. – 1991. – № 3. – С. 88-91.

3. Прахин Е.И., Прохоренков В.И., Терещенко С.Ю. Роль структурно-функционального состояния плазматических мембран в патологии различных нозологических форм атопических заболеваний у детей // Педиатрия. – 1997. – 32. – С. 14-19.

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

5. Фазель Хамід. Особливості перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в неонатальному періоді у дітей з малою масою тіла // ПАГ. – 1998. – № 5. – С. 43-46.

6. Юнусов А.Н., Чернышов В.Г. Показатели перекисного окисления липидов у недоношенных новорожденных с гипоксическими поражениями центральной нервной системы // Здоровоохранение Таджикистана. – 1991. – № 2. – С. 24.

7. Carrigan G.G. Correlation of free oxygen radical-induced lipid peroxidation with outcome in very birth weight infants // J. Pediatr. – 1990. – 116, № 5. – P. 760-764.

8. Guteteridge G.N.C. Thiobarbituric acid-reactivity following irondependent free-radical damage to aminoacids and carbohydrates // FEBS Lett. – 1981. – 128, № 2. – P. 343-346.

СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ВНУТРИУТРОБНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИДА ВСКАРМЛИВАНИЯ

Халед Хамзе Хасан

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Проведено исследование состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) у новорожденных недоношенных детей с внутриутробными инфекциями в зависимости от степени недоношенности и вида вскармливания. Обнаружено значительную активацию ПОЛ у больных детей, которая зависела от степени недоношенности и вида вскармливания. У недоношенных детей с внутриутробными инфекциями, которые находились на искусственном вскармливании специальной молочной смесью “Alprem”, процессы ПОЛ были выражены в меньшей степени, чем у детей, которых вскармливали обычной молочной адаптированной смесью “Малютка”.

КЛЮЧЕВІЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, недоношенные дети с внутриутробными инфекциями, грудное и искусственное вскармливание.

STATUS OF LIPID PEROXIDATION OF THE PREMATURE BABIES WITH INTRAUTERINE INFECTION DEPENDING ON THE FEEDING METHOD

Khaled H. Hamzeh

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The dependence of lipid peroxidation (POL) state in the premature babies with intrauterine infections (I.U.I.), according to the degree of prematurity and the feeding method was inspected. It was found that activation of the POL was in direct connection with the degree of prematurity and method of feeding. In the group of prematures with I.U.I. that had received the specialized formula “Alprem” and those on breast feeding, the processes of POL were significantly less than in those who received the regular formula “Malutka”.

KEY WORDS: lipid peroxidation, premature babies with intrauterine infections, breast and artificial bottle-feeding.

Отримано 02.04.2003 р.

Адреса для листування: Халед Хамзе Хасан, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ У ПАГОНАХ ДЕЯКИХ РОСЛИН ФЛОРИ УКРАЇНИ

В.В. Малий

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот у пагонах деяких досліджуваних видів рослин за допомогою спектрофотометричного методу та встановлено перспективні джерела отримання похідних гідроксикоричної кислоти.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гідроксикоричні кислоти, пагони тополі білої, сливи домашньої, черешні звичайної, бузку звичайного, вишні звичайної, гіркокаштана кінського, груші звичайної.

ВСТУП. Невпинне зростання відсотка рослинних препаратів свідчить про актуальність пошуку нових джерел лікарської рослинної сировини та фітосубстанцій.

Особливу увагу привертають рослини вітчизняної флори, що містять фенольні сполуки. Похідні коричної кислоти, що належать до низькомолекулярних [1] фенолів, мають цікавий спектр біологічної активності. Це жовчогінна, антимікробна, антиоксидна дія [1, 2, 5].

Зважаючи на перспективність пошуку нових рослинних об'єктів, що мають похідні коричної кислоти, ми звернули увагу на декоративні та фруктові дерева.

Об'єктами досліджень були пагони рослин, які широко і різноманітно застосовуються в народній (а деякі і в науковій) медицині.

Гідроксикоричні кислоти вивчали методом паперової хроматографії в системах "бутанол-оцтова кислота-вода" (4:1:2), "15 % і 2 % оцтова кислота" з наступною обробкою хроматограм проявними реактивами [4-8]. У результаті проведених попередніх досліджень встановлено, що значну кількість гідроксикоричних кислот містять пагони вишні звичайної, черешні звичайної, гіркокаштана кінського, тополі білої, груші звичайної, бузку звичайного та сливи домашньої.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Заготівлю пагонів дерев проводили в період початку сокоруху протягом 1998-1999 рр. у Харківській та Хмельницькій областях.

Вміст гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометрично в перерахунку на хлорогенову кислоту [3]. 2,5 г (точна наважка) подрібненої сировини, що проходить крізь сито з отворами діаметром 1 мм, поміщали в колбу

© В.В. Малий, 2003.

місткістю 200 мл та додавали 60 мл води. Колбу приєднували до зворотного холодильника та нагрівали на водяній бані протягом 15 хв. Екстракцію повторювали ще двічі. Екстракти об'єднували і після охолодження фільтрували через паперовий фільтр на воронці Бюхнера. Витяг кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм розчину до мітки (розчин А).

У круглодонну колбу місткістю 50 мл поміщали 1 мл розчину А та розчиняли його в розчині 20 % етанолу, доводячи об'єм рідини до мітки тим же розчинником. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 327 нм. Розчином порівняння був 20 % етанол. Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту визначали за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot 200 \cdot 50 \cdot 100}{E_{1cm}^{1\%} \cdot a_1 \cdot 1 \cdot (100 - W)}$$

де D_1 – оптична густина розчину;

a_1 – наважка сировини в грамах;

W – втрата у вазі при висушуванні в %;

$E_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти (531 нм).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати кількісного визначення гідроксикоричних кислот у пагонах рослин, що вивчались, наведено в таблиці 1.

Як свідчать результати таблиці 1, найбільшу кількість похідних коричної кислоти містять пагони тополі білої (понад 4 %) та сливи домашньої (понад 3 %). У пагонах черешні звичайної і бузку звичайного також є досить значна кількість гідроксикоричних кислот (2,05 і 1,83 % відповідно).

Таблиця 1 – Результати кількісного спектрофотометричного визначення суми гідроксикоричних кислот у пагонах деяких рослин (у розрахунку на абсолютно суху речовину, n=3)

№ за/п	Видова назва рослини	Сума гідроксикоричних кислот у розрахунку на хлорогенову кислоту
1	Тополя біла	4,08±0,04
2	Слива домашня	3,07±0,04
3	Черешня звичайна	2,05±0,04
4	Бузок звичайний	1,83±0,04
5	Вишня звичайна	1,56±0,04
6	Гіркокаштан кінський	1,36±0,03
7	Груша звичайна	1,02±0,02

ВИСНОВКИ. 1. Визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот у пагонах 7 досліджуваних видів рослин за допомогою спектрофотометричного методу в розрахунку на хлорогенову кислоту.

2. Перспективними джерелами похідних гідроксикоричних кислот можуть бути пагони тополі білої (понад 4 %) та сливи домашньої (понад 3 %), а також пагони черешні звичайної та бузку звичайного (2,05 і 1,83 % відповідно).

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. – М.: Наука, 1984. – 160 с.
2. Блажей В., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. – М.: Мир, 1977. – 235 с.
3. ВФС “Трава мелкопестника канадского” 42У-6/37-232-96.
4. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам: В 2 ч. / Под ред. О. Микеша. – М.: Мир, 1982. – 781 с.
5. Симонян А.В. Активность производных коричневых кислот и новые методы их синтеза // Хим.-фармац. журн. – 1993. – **23**, № 2. – С. 21-27.
6. Хайс И.М., Мацек К. Хроматография на бумаге. – М.: Изд-во иностран. лит., 1962. – 851 с.
7. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: В 2 ч. / Под ред. В.Г. Берукина и С.Д. Соколова. – М.: Мир, 1980. – 526 с.
8. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. – М.: Мир, 1965. – 507 с.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ПОБЕГАХ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ ФЛОРЫ УКРАИНЫ

В.В. Малий

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Определено количественное содержание гидроксикоричных кислот в побегах некоторых исследуемых видов растений спектрофотометрическим методом и установлено перспективные источники получения производных гидроксикоричной кислоты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гидроксикоричные кислоты, побеги тополя белого, сливы домашней, черешни обыкновенной, сирени обыкновенной, вишни обыкновенной, каштана конского, груши обыкновенной.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF HYDROXICINNAMIC ACIDS IN SHOOTS OF SOME PLANTS OF UKRAINE'S FLORA

V.V. Maliy

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

It was determined the quantitative content of hydroxycinnamic acids in shoots of some investigated types of plants by spectrophotometric methods and it was also found out the perspective sources of hydroxycinnamic acid derivatives obtaining.

KEY WORDS: hydroxycinnamic acids, shoot of *Populus alba*, *Prunus domestica*, *Cerasus avium*, *Syringa vulgaris*, *Cerasus vulgaris*, *Aesculus hippocastanum*, *Pyrus communis*.

Отримано 25.11.2002 р.

Адреса для листування: В.В. Малий, вул. Тимурівців, 11-а, кім. 704, Харків, 61140, Україна.

ДИНАМІКА МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У СПОЛУЧНІЙ ТКАНИНІ КІСТКИ ДІТЕЙ З ГЕПАТОБІЛІАРНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВИРАЖЕННЯ ОСТЕОПЕНІЧНОГО СИНДРОМУ

М.І. Кінаш

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті наведено динаміку наростання метаболічних порушень у сполучній тканині кістки дітей із гепатобіліарною патологією залежно від вираження остеопенічного синдрому. Як маркери дезорганізації кісткової тканини вивчали зміни рівнів вільного оксипроліну та румалонових антитіл в сироватці крові. Зокрема, виявлено достовірне підвищення їх вмісту в сироватці крові при зниженні мінеральної щільності кісткової тканини відносно здорових дітей.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: діти, оксипролін, румалонові антитіла, остеопенічний синдром, гепатобіліарна патологія.

ВСТУП. Остеопороз як одна з найбільш актуальних медичних проблем суспільства потребує доступних методів діагностики та профілактики на ранніх стадіях свого розвитку. Оскільки саме в дитячому віці (в пре- та пубертатний періоди) відбувається найінтенсивніше накопичення кісткової маси, яке досягає свого піку до 20 років життя, а також в подальшому визначає ризик розвитку остеопорозних переломів, стає зрозумілим завданням своєчасного виявлення та проведення корекції відхилень мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) у дітей [5].

При остеопенічному синдромі внаслідок декальцифікації кістки спочатку порушується архітектоніка колагену, а при відсутності корекції гомеостазу кальцію в подальшому відбувається його руйнування. Вільний оксипролін сироватки крові, будучи аналітичним "індикатором" колагену, є також маркером його розпаду [7]. Дезорганізація сполучної тканини кістки активізує механізми колагеноутворення, свідченням якого є висока активність румалонантитілоутворення – специфічних до сполучнотканинних елементів антитіл [1, 2]. У науковій літературі є ряд праць, присвячених вивченню динаміки рівня гідроксипроліну в сечі як маркера резорбції кісткової тканини, що утворюється внаслідок екскреції білковозв'язаного оксипроліну в сироватці крові [3, 4, 6], але немає робіт, які б висвітлювали зміну вмісту вільного оксипроліну та румалонових антитіл у сироватці крові залежно від вираження остеопенічного синдрому.

© М.І. Кінаш, 2003.

Метою роботи було вивчити динаміку рівнів вільного оксипроліну та румалонових антитіл (РмАт) в сироватці крові залежно від стану МЩКТ у дітей з гепатобіліарною патологією.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 123 дітей із захворюваннями гепатобіліарної системи віком від 5 до 15 років, які перебували на стаціонарному лікуванні в Тернопільській міській дитячій лікарні. Вікову структуру та розподіл за статтю наведено в таблиці 1. Тривалість гепатобіліарної патології становила від 1 до 11 років.

Для верифікації діагнозу проводили комплексне клінічне обстеження пацієнтів в умовах стаціонару. Стан мінералізації кісткової тканини визначали методом двофотонної рентгенівської абсорбціометрії за допомогою денситометра "Lunar" DPX-A. Порушення обміну в сполучній тканині кістки оцінювали шляхом визначення рівня вільного оксипроліну в сироватці крові за колориметричним методом Stegemann в модифікації L. Bergman і R. Loxley, який удосконалив М.А. Осадчук і Т.П. Кузнецовою, та вмісту РмАт за допомогою фотометричної оцінки густини преципітату, що утворився при осадженні комплексу "антиген – антитіло" в 0,13 % розчині сірчаноокислого кадмію. Хронічний гепатит В (ХГВ) чи хронічний гепатит С (ХГС) підтверджували методом імуноферментного аналізу та, вибірково, методом полімеразної ланцюгової реакції.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У віковій структурі обстежених діти 11-15 років складають

Таблиця 1 – Розподіл хворих за віком та статтю

Вік обстежених, роки	Хлопчики		Дівчатка		Всього	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
6-10	16	13,01	18	14,63	34	27,64
11-15	47	38,21	42	34,15	89	72,36
Всього	63	51,22	60	48,78	123	100,00

майже три чверті хворих. Це пов'язано з більш тривалою негативною дією зовнішнього середовища на дитину, а також нейрогуморальною перебудовою організму в даний період.

Після проведеного обстеження у 21,14 % пацієнтів діагностовано дискінезію жовчовивідних шляхів (ДЖВШ) за гіпотонічним типом, у 22,76 % – хронічний холангіт (ХХ), у 26,02 % – хронічний холецистохолангіт (ХХХ), у 0,8 % – хронічний калькульозний холецистит (ХКХ), у 13,82 % дітей – НВV-інфекцію, у 12,20 % – НСV-інфекцію, у 3,25 % – поєднання НВV- та НСV-інфекцій. Характер розподілу виявленої гепатобілярної патології наведено на рисунку 1.

Денситометрія перших чотирьох поперекових хребців виявила у 70,73 % дітей зниження МЦКТ, тоді як нормальна МЦКТ спостерігалася тільки у 29,27 % обстежених. Отже, більш ніж у двох третин хворих з гепатобілярною патологією діагностували остеопенічний синдром. Зниження мінералізації кісткової тканини найчастіше спостерігалася у дітей з тривалістю захворювання 3 і більше років, яким не проводили своєчасне та якісне протирецидивне лікування. При хронічних вірусних гепатитах зменшення маси кісткової тканини було виявлено у дітей, починаючи з 3-річної (3,10±0,41) давності патології з НВV-інфекцією та після 7 (7,50±1,12) років – з НСV-інфекцією. Стан мінеральної щільності кісткової тканини наведено на рисунку 2.

Поглиблений аналіз рівня вільного оксипроліну в сироватці крові як маркера резорбції кісткової тканини залежно від структурно-функціональних порушень у кістковій тканині показав, що його вміст збільшується з наростанням ознак остеопенічного синдрому. Він достовірно підвищений ($p < 0,001$) у пацієнтів з остеопенією I, II, III ступенів та остеопорозом відносно показників осіб контрольної групи, а також відмічено вірогідне ($p < 0,05$) зростання

рівня вільного оксипроліну в дітей з остеопенією II, III ступенів та остеопорозом порівняно з хворими, які мали нормальну МЦКТ.

Достовірне зростання ($p < 0,001$) рівня РmАт в сироватці крові, яке свідчить про прискорену втрату сполучної тканини кістки, відзначено у хворих з остеопенією I, II, III ступенів та остеопорозом відносно показників дітей контрольної групи, вірогідне ($p < 0,05$) збільшення вмісту РmАт – у пацієнтів з остеопорозом порівняно з тими, які мали нормальну МЦКТ. При цьому виявлено закономірність: чим нижча МЦКТ, тим вищий рівень РmАт. Вміст вільного оксипроліну та РmАт наведено в таблиці 2.

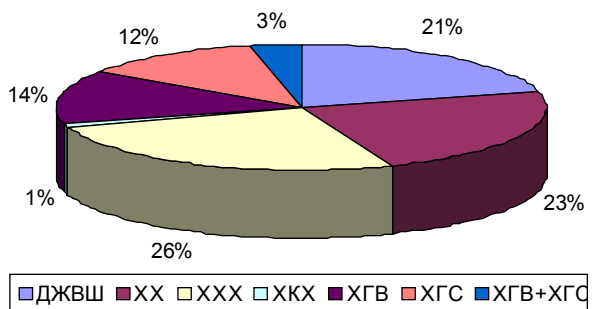


Рис. 1. Нозологічні одиниці, діагностовані в обстежених.

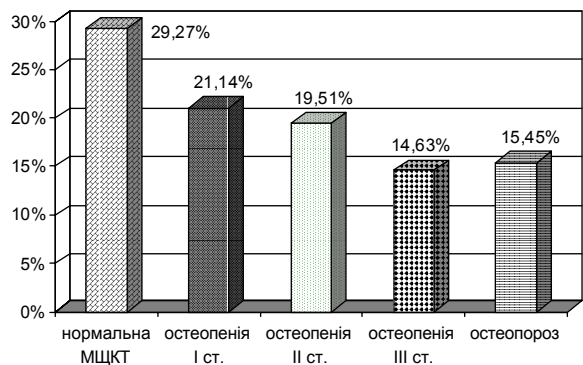


Рис. 2. Розподіл дітей за МЦКТ.

Таблиця 2 – Вміст вільного оксипроліну, РmАт в сироватці крові дітей з гепатобілярною патологією залежно від стану МЦКТ

Критерії	Нормальна МЦКТ n=21	Остеопенія I ступеня n=19	Остеопенія II ступеня n=13	Остеопенія III ступеня n=17	Остеопороз	Контрольна група n=15
Вільний оксипролін, мкмоль/л	35,47±1,92*	38,72±3,49*	51,15±5,44**/**	49,49±5,95**/**	54,46±6,68**/**	29,70±2,12
РmАт, ум. од.	23,23±0,95*	23,52±1,90*	23,58±2,09*	26,80±2,24*	30,90±1,91**/**	16,53±1,32

Примітка. * – достовірність показників порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$);

** – достовірність показників порівняно з дітьми з нормальною МЦКТ ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. 1. Зниження мінеральної щільності кісткової тканини, тобто зростання проявів остеопенічного синдрому з переходом в остеопороз, супроводжується достовірним підвищенням рівня вільного оксипроліну та румалонових антитіл в сироватці крові пацієнтів

з гепатобіліарною патологією порівняно зі здоровими дітьми.

2. Вільний оксипролін та румалонові антитіла в сироватці крові можуть бути маркерами дезорганізації кісткової тканини на ранніх стадіях її структурно-функціональних порушень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Банадига Н.В. Динаміка метаболічних зрушень сполучної тканини у дітей з бронхіальною астмою // Педіатрія, акушерство та гінекол. – 1998. – С. 26-27.

2. Бененсон Е.В., Мамасаидов А.Т., Цай Е.Г. Антигенспецифическая В-клеточная активация при ревматоидном артрите и остеоартрозе // Ревматол. – 1992. – № 1. – С. 18-21.

3. Минченко Б.И., Беневоленский Д.С., Тишенина Р.С. Биохимические показатели метаболических нарушений в костной ткани // Клин. лаб. диагн. – 1999. – Часть I: Резорбция кости. – № 1. – С. 8-15.

4. Насонов Е.Л. Проблемы остеопороза: изучение

биохимических маркеров костного метаболизма // Клинич. медицина. – 1998. – № 5. – С. 20-25.

5. Поворознюк В.В., Віленський А.Б., Григор'єва Н.В. Остеопенічний синдром у дітей та підлітків: фактори ризику, діагностика. Профілактика // Метод. посібник. – К., 2001. – 32 с.

6. Рожинская Л.Я. Остеопороз: диагностика нарушенного метаболизма костной ткани и кальций-фосфорного обмена (лекция) // Клин. лаб. диагн. – 1998. – № 5. – С. 25-32.

7. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – Л.: Медицина, 1969. – 375 с.

ДИНАМИКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ КОСТИ ДЕТЕЙ С ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫРАЖЕННОСТИ ОСТЕОПЕНИЧЕСКОГО СИНДРОМА

М.И. Кинаш

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В работе представлена динамика нарастания метаболических нарушений в соединительной ткани кости детей с гепатобилиарной патологией в зависимости от выраженности остеопенического синдрома. Как маркеры дезорганизации костной ткани изучали изменения уровней свободного оксипролина и румалоновых антител в сыворотке крови. В частности, выявлено (обнаружено) достоверное повышение их содержания в сыворотке крови при снижении минеральной плотности костной ткани относительно здоровых детей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дети, оксипролин, румалоновые антитела, остеопенический синдром, гепатобилиарная патология.

DYNAMICS OF METABOLIC DISTURBANCES IN CONNECTIVE TISSUE OF BONE IN CHILDREN WITH HEPATOBILIARY PATHOLOGY DEPENDING ON EXPRESSIVENESS OF OSTEOPENIC SYNDROME

M.I. Kinash

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The dynamics of increase of metabolic disturbances in connective tissue of bone in children with hepatobiliary pathology is submitted in work depending on expressiveness of osteopenic syndrome. Changes of levels of free oxyproline and antirumalonum antibodies in blood serum as markers of disorganization of bone tissue were studied. In particular, it was revealed the authentic increase of their contents of blood serum at decrease of mineral density of bone tissue of rather healthy children.

KEY WORDS: children, oxyproline, rumalonum antibodies, osteopenic syndrome, hepatobiliary pathology.

Отримано 02.04.2003 р.

Адреса для листування: М.І. Кинаш, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

СТАН ПОКАЗНИКІВ КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНОГО ОБМІНУ В ДІТЕЙ З РЕНАЛЬНИМИ ОСТЕОПАТІЯМИ

Т.П. Боймиструк

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У дітей з хронічним пієлонефритом вивчали показники кальцій-фосфорного обміну залежно від стану мінералізації кісткової тканини. Найбільш виражені порушення у вигляді гіпокальціємії, гіпофосфатемії при зростанні втрат кальцію із сечею виявлено при розвитку остеопорозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: діти, хронічний пієлонефрит, остеопороз, кальцій, фосфор.

ВСТУП. Нирки є одним з важливих регуляторів водно-сольового обміну. Вони беруть участь в підтриманні певного рівня співвідношення поза- та внутрішньоклітинних водних просторів, регулюванні електролітного складу крові, в тому числі кальцій-фосфорного гомеостазу [4]. Інтерес до вивчення кальцій-фосфорного обміну при пієлонефриті зумовлений самою природою захворювання, при якому відбувається ураження переважно каналцевої частини нефрону, яка бере участь у регуляції виділення даних електролітів. У відомій нам літературі відомостей про обмін кальцію (Ca) та фосфору (P) при пієлонефриті без порушення функції нирок є недостатньо, вони мають суперечливий характер [2, 3, 5]. Неоднозначність змін вмісту кальцію та фосфору в крові й сечі, відсутність досліджень з оцінки ролі нирок у регуляції кальцій-фосфорного обміну при хронічному пієлонефриті (ХП) в їх зв'язку з кістковою системою, що виконує важливу гомеостатичну функцію в організмі дитини, спонукали нас до вивчення цієї проблеми.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 91 хворого з хронічним пієлонефритом віком 6-15 років. Серед дітей переважали дівчатка – 85,7 %. Для оцінки рівня мінералізації кісткової тканини використовували методіку двофотонної рентгенівської абсорбціометрії за допомогою денситометра DPX-A фірми "Lunar Corp" (США) за Z-критерієм. Серед усіх обстежених нормальну мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ) відмічали в 37,4 % дітей, її зниження – в 51,6 %, з них у 40,6 % – остеопенію, в 11,0 % – остеопороз. Явища остеосклерозу були в 11,0 % осіб. Біохімічне дослід-

ження крові та сечі включали визначення вмісту загального кальцію за кольоровою реакцією з 0-крезолфталейнкомплексом (норма Ca в сироватці крові 2,02-2,75 ммоль/л), неорганічного фосфору – за відновленням фосфорномолібденової кислоти (норма P в сироватці крові 0,64-1,60 ммоль/л) та креатиніну за кольоровою реакцією Яффе [1]. Екскрецію електролітів з сечею визначали протягом 2 год вранці натще. Для кожного з них обчислювали такі показники, як коефіцієнти кальцій/фосфор крові та сечі, кліренс та екскреторна фракція речовини, її фільтраційний заряд [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Різноманітний спектр виявлених співвідношень між загальним кальцієм і фосфором у сироватці крові наведено в таблиці 1.

Отримані дані свідчать про те, що нормокальціємія-нормофосфатемія з однаковою частотою зустрічалася як у хворих з нормальною МЩКТ, так і при остеопенії (53,6 і 53,1 % відповідно), тоді як при остеопорозі – лише в 1/4 дітей. З порушень співвідношення при остеопорозі найбільшу частку складала гіпокальціємія на фоні нормального рівня фосфору (50,0 %), значно меншу – гіпокальціємія з гіпо- чи гіперфосфатемією (по 12,5 %). При остеопенії в 34,4 % гіпо- чи нормокальціємія супроводжувалася гіперфосфатемією, тоді як при нормальній МЩКТ рівень фосфору підвищувався в 25,0 %.

Середньостатистичні показники кальцій-фосфорного обміну наведено в таблицях 2 і 3.

Аналіз даних про середній рівень загального кальцію в сироватці крові показав достовірне зниження його у хворих з остеопорозом до (1,93±0,04) ммоль/л проти такого при

нормальній МЩКТ та остеопенії, тоді як у дітей з остеопенією він не відрізнявся від аналогічного показника при збереженій МЩКТ – (2,13±0,04) та (2,15±0,04) ммоль/л відповідно. Щодо вмісту фосфору в сироватці крові, то встановлено вірогідне його збільшення при остеопенії порівняно з нормальною МЩКТ – (1,51±0,05) та (1,35±0,06) ммоль/л відповідно. Він не виходив за межі фізіологічної норми. Це зумовило зниження коефіцієнта Ca/P крові в даній групі дітей до 1,44±0,05 (P<0,05). Гіпокальціємія при остеопорозі супроводжувалася зменшенням рівня фосфору до (1,17±0,13) ммоль/л, який був достовірним щодо показника при остеопенії та мав тенденцію до зниження відносно хворих з нормальною МЩКТ.

Аналіз змін коефіцієнта Ca/P сечі показав тенденцію до його зниження при остеопенії та вірогідне зменшення при остеоосклерозі проти значень при нормальній МЩКТ.

Екскреція кальцію при остеопенії достовірно зменшувалася, порівняно з нормальною МЩКТ, майже у 2 рази. А при остеоосклерозі вона мала лише тенденцію до зниження. Порушень в екскреції фосфору при хронічному піелонефриті залежно від ступеня втрати кісткової маси не спостерігалось. Зміни виведення

кальцію не супроводжувалися збільшенням його фільтрації. Хоча фільтраційний заряд кальцію при остеопорозі мав тенденцію до зростання порівняно з остеопенією.

Здатність нирок до очищення кальцію при остеопенії була достовірно зниженою щодо збереженої МЩКТ – (0,21±0,04) та (0,45±0,07) мл/хв відповідно. При остеопорозі кліренс кальцію вірогідно зростав до (1,14±0,32) мл/хв як відносно групи з остеопенією, так і проти осіб з нормальною МЩКТ. Це супроводжувалося достовірним збільшенням до (5,89±1,17) мл/хв кліренсу фосфору щодо показника при остеопенії та тенденцією до зростання стосовно хворих зі збереженою МЩКТ.

ВИСНОВКИ. 1. При остеопенії вміст загального кальцію в сироватці крові підтримується на рівні показників пацієнтів зі збереженою МЩКТ. Це досягається резорбцією даного елемента з кісткової тканини та збільшенням його реабсорбції в ниркових каналцях, на що вказує зниження таких показників, як екскреторна фракція та кліренс кальцію. При цьому фільтрація даного електроліту не порушується. Щодо значень неорганічного фосфору в крові, то в цих дітей відмічається підвищення його

Таблиця 1 – Спектр співвідношення кальцію та фосфору в сироватці крові дітей з хронічним піелонефритом залежно від стану МЩКТ, %

Вид співвідношення	Нормальна МЩКТ	Остеопенія	Остеопороз	Остеосклероз
нормокальціємія-нормофосфатемія	53,6	53,1	25,0	62,5
гіпокальціємія-нормофосфатемія	21,4	12,5	50,0	12,5
гіпокальціємія-гіпофосфатемія	-	-	12,5	-
гіпокальціємія-гіперфосфатемія	-	12,5	12,5	-
нормокальціємія-гіперфосфатемія	25,0	21,9	-	25,0

Таблиця 2 – Показники кальцієвого обміну в дітей із хронічним піелонефритом залежно від стану МЩКТ (M±m)

Стан МЩКТ	P _{ca} , ммоль/л	P _{ca} /P _{ph}	F _{ca} , ммоль/хв	E _{ca} , %	C _{ca} , мл/хв
нормальна	2,15±0,04	1,65±0,07	0,130±0,016	0,61±0,10	0,45±0,07
остеопенія	2,13±0,04 ⁺	1,44±0,05 ⁺	0,108±0,019	0,35±0,05 ⁺⁺	0,21±0,04 ⁺
остеопороз	1,93±0,04 ⁺	1,73±0,40	0,165±0,044	0,72±0,14	1,14±0,32 ⁺
остеоосклероз	2,20±0,05	1,79±0,24	0,147±0,088	0,37±0,14	0,39±0,35

Примітка: 1. P, F, E, C – відповідно, вміст електроліту в сироватці крові, фільтраційний заряд, екскреція та кліренс.
2. * – вірогідність відмінності показників порівняно з нормальною МЩКТ.
3. + – вірогідність відмінності показників порівняно з остеопорозом.

Таблиця 3 – Показники фосфорного обміну в дітей з хронічним піелонефритом залежно від стану МЩКТ (M±m)

Стан МЩКТ	P _{ph} , ммоль/л	U _{ca} /U _{ph}	E _{ph} , %	C _{ph} , мл/хв
нормальна	1,35±0,06	0,24±0,04	5,38±1,04	3,85±0,62
остеопенія	1,51±0,05 ⁺⁺	0,16±0,03	4,27±0,54	3,21±0,62 ⁺
остеопороз	1,17±0,13	0,26±0,32	4,66±1,24	5,89±1,17
остеоосклероз	1,36±0,16	0,12±0,04 ⁺	3,84±0,20	3,97±2,62

Примітка: 1. P, U, E, C – відповідно, вміст електроліту в сироватці крові, сечі, екскреція та кліренс.
2. * – вірогідність відмінності показників порівняно з нормальною МЩКТ;
3. + – вірогідність відмінності показників порівняно з остеопорозом.

рівня до верхньої межі норми. Проте виведення фосфору із сечею залишається незмінним.

2. При розвитку остеопорозу рівень сироваткового кальцію суттєво знижується та супроводжується відносним зменшенням вмісту фосфору в крові. Одночасно відмічається збільшення втрат кальцію з сечею за рахунок підвищення його екскреторної фракції (внаслідок зниження ренальної реабсорбції) та одночасного зростання фільтрації даного електроліту. Екскреція фосфору з сечею залишається непорушеною, проте кліренс його зростає порівнян з нормальною МЦКТ та остеопенією.

Дані порушення при остеопорозі вказують на неспроможність кальцій-регулювальних гормонів здійснювати підтримку постійності кальціємії. При цьому гіпокальціємія та підвищені втрати кальцію з сечею, у свою чергу, створюють негативне тло для поглиблення порушення процесів ремоделювання кісткової тканини, зокрема посилення кісткової резорбції.

3. При остеосклерозі істотних змін у мінеральному обміні не відбувається. Рівень загального кальцію та фосфору в сироватці крові не порушується. Проте відмічається тенденція до зменшення екскреції даних електролітів з сечею.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аксененко З.П., Баркаган З.С., Гетте З.П. та ін. Клінічна лабораторна діагностика: Навчальний посібник / За ред. М.А. Базарної, З.П. Гетте. – К.: Вища школа, 1994. – 423 с.
2. Багдасарова І.В., Майданник В.Г., Мороз О.В. Функціональний стан нирок та рентгенологічні порівняння у дітей, хворих на пієлонефрит // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1998. – № 4. – С. 26-30.
3. Бойчук Т.В. Стан гомеостатичних показників хворих на хронічний пієлонефрит із синдромом артеріальної гіпертензії // Буковин. мед. вісник. –

2001. – 5, № 2. – С. 40-45.

4. Druke T.B. Nephrology forum. The pathogenesis of parathyroid gland hyperplasia in chronic renal failure // Kidney Int. – 1995. – 48. – P. 259-272.
5. Rodrigue M., Martin-Malo A., Martinez M.E. et al. Calcemic response to parathyroid hormone in renal failure: Role of phosphorus and its effect on calcium // Kidney Int. – 1991. – 40. – P. 1055-1062.
6. Эмануель В.Л. Лабораторная оценка функционального состояния почек // Клинич. лаб. диагн. – 1997. – № 10. – С. 25-32.

СОСТОЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ Кальций-ФОСФОРНОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ С РЕНАЛЬНЫМИ ОСТЕОПАТИЯМИ

Т.П. Боймиструк

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

У детей с хроническим пиелонефритом изучали показатели кальций-фосфорного обмена в зависимости от состояния минерализации костной ткани. Наиболее выраженные нарушения в виде гипокальциемии и гипофосфатемии при возрастании потерь кальция с мочой обнаружены при развитии остеопороза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дети, хронический пиелонефрит, остеопороз, кальций, фосфор.

CONDITION OF PARAMETERS OF THE CALCIUM – PHOSPHORIC METABOLISM IN CHILDREN WITH RENAL OSTEOPATIES

T.P. Boymystruk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

We studied the parameters of calcium-phosphoric metabolism dependind on condition of mineralization of a bone tissue in children with a chronic pyelonephritis. Loss of calcium with the urine, expressed hypocalcaemia and hypophosphatemia is increased at the development of osteoporosis.

KEY WORDS: children, chronic pyelonephritis, osteoporosis, calcium, phosphorus.

Отримано 02.04.2003 р.

Адреса для листування: Т.П. Боймиструк, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.