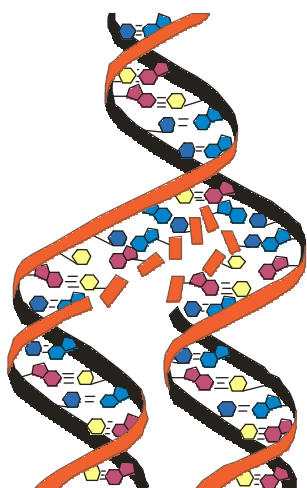


*Академія медичних наук України
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
Українська Академія наук національного прогресу*

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

3 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

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Оксененко С.В., Каліман П.А. (Харків) ВПЛИВ ПЕНТОКСИФІЛІНУ НА ЛІПІДНИЙ СПЕКТР СЕРЦЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ЦИКЛОГЕКСИМІДУ 5
- Губський Ю.І., Амосова К.М., Конопльова Л.Ф., Задорін Є.М., Юрженко Н.М. (Київ) ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ЕЙЗЕНМЕНГЕРА ТА ПЕРВИННОЮ ЛЕГЕНЕВОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ 10
- Мищенко О.Я., Штриголь С.Ю., Яковлева Л.В., Садін А.В., Гришина Т.Р. (Харків, Іваново) ВИВЧЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ЗАСОБУ "ПОЛЛЕНТАР" 14
- Гонський Я.І., Гнатів В.В. (Тернопіль) РОЛЬ ГІПОКСІЇ ТА ПРОТОННОГО МЕХАНІЗМУ ПАРІЄТАЛЬНИХ КЛІТИН У ВИНИКНЕННІ СТРЕСОВИХ І ПЕПТИЧНИХ ВИРАЗОК; ЗАХИСНИЙ І ЛІКУВАЛЬНИЙ ЕФЕКТИ ШЛУНКОВОЇ ОКСИГЕНОТЕРАПІЇ 18
- Лелека М.В. (Харків) МЕТОДИКА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ БУРШТИНОВОЇ КИСЛОТИ В КАПСУЛАХ "ПОЛЛЕНТАР" 23
- Марчишин С.М. (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ КОРЕНЕВИЩ ТА КОРЕНІВ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО AGROPYRON REPENS (L.) 27
- Решетар Д.В., Габор М.Л., Лемко О.І. (Ужгород) ВПЛИВ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО АЕРОЗОЛЮ КАМ'ЯНОЇ СОЛІ НА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СТАН АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ОБСТРУКТИВНИЙ БРОНХІТ 31
- Яценко О.В. (Київ) ОЦІНКА ПРОЦЕСУ ЛІПІДНОЇ ПЕР-ОКСИДАЦІЇ В ОЦІ ХВОРИХ НА ВІКОВУ КАТАРАКТУ 35
- Пелешенко Г.Б., Шевцова А.І., Бразалук О.З., Куряга О.В. (Дніпропетровськ) СТАН ФІБРОНЕКТИНУ ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ЙОГО ВЗАЄМОДІЯ З ІМУНО-ГЛОБУЛІНОМ G ПРИ СИСТЕМНІЙ СКЛЕРОДЕРМІЇ 38
- Байса І.Ю. (Львів) КІНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА Na,K,Cl-КОТРАНСПОРТУ В ЕРИТРОЦИТАХ ПРИ ХВОРОБІ АЛЬЦГЕЙМЕРА 43
- Петренко О.Ю., Черкашина Д.В. (Харків) ДІЯ ЕМБРІО-СПЕЦИФІЧНИХ ФАКТОРІВ НА ПЕРЕБІГ ГОСТРОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТЕТРАХЛОРЕТАНОМ У ЩУРІВ 47
- Лихацька Г.В. (Тернопіль) ЗМІНИ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВУ ХВОРОБУ ІЗ СУПРОВІДНИМ УРАЖЕННЯМ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ 52
- Давидова Н.В. (Чернівці) ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ РОДІОЛІ РІДКОГО НА СТАН ОКСИДНОЇ ТА АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ І КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ 56
- Лизогуб В.Г., Бондарчук О.М., Брюзгіна Т.С. (Київ) ЗМІНИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ 60
- Фіра Л.С., Гонський Я.І. (Тернопіль) МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН, УРАЖЕНИХ ІТРИТОМ НАТРІЮ 64

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Oksenenko S.V., Kaliman P.A. (Kharkiv) PENTOXIFYLLINE INFLUENCE ON HEART LIPID SPECTRUM OF RATS UNDER CYCLOHEXIMIDE ACTION 5
- Hubskiy Yu.I., Amosova K.M., Konoplyova L.F., Zadorin Ye.M., Yurzhenko N.M. (Kyiv) COMPARATIVE ESTIMATION OF PARAMETERS OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN BLOOD OF PATIENTS WITH EYZENMENGER'S SYNDROME AND PRIMARY PULMONARY HYPERTENSION 10
- Mishchenko O.Ya., Shtrygol S.Yu., Yakovleva L.V., Sadin A.V., Gryshyna T.R. (Kharkiv, Ivanovo) RESEARCH OF CEREBROPROTECTIVE ACTION OF DRUG "POLLENTAR" 14
- Honsky Ya.I., Hnativ V.V. (Ternopil) ROLE OF HYPOXIA AND PROTON MECHANISM OF PARIETAL CELLS IN OCCURRENCE OF STRESS AND PEPTIC ULCERS; PROTECTIVE AND THERAPEUTIC ACTION OF GASTRIC OXYGENOTHERAPY 18
- Leleka M.V. (Kharkiv) METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF AMBER ACID IN CAPSULES "POLLENTAR" 23
- Marchyshyn S.M. (Ternopil) RESEARCH OF CHEMICAL COMPOUND OF THE COUCH-GRASS AGROPYRON REPENS (L.) RHIZOMES AND ROOTS 27
- Reshetar D.V., Gabor M.L., Lemko O.I. (Uzhhorod) THE INFLUENCE OF ROCK-SALT HIGH-DISPERSED AEROSOLE ON THE LIPIDS PEROXIDATION PROCESSES AND ANTIOXIDANT DEFENCE IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE BRONCHITIS 31
- Yatsenko O.V. (Kyiv) EVALUATION OF OCULAR LIPID PEROXIDATION PROCESS IN PATIENTS WITH AGE CATARACT 35
- Peleshenko G.B., Shevtsova A.I., Brazaluk O.Z., Kuriata O.V. (Dnipropetrovsk) THE STATE OF BLOOD PLASMA FIBRO-NECTIN AND ITS INTERACTION WITH IMMUNOGLO- BULIN G AT SCLERODERMIA SYSTEMATICA 38
- Bajsa I.Yu. (Lviv) THE KINETIC CHARACTERISTIC OF Na,K,Cl-COTRANSPORT IN ERYTHROCYTES AT ALZHEIMER'S DISEASE 43
- Petrenko O.Yu., Cherkashyna D.V. (Kharkiv) THE INFLUENCE OF EMBRYOSPECIFIC FACTORS ON THE ACUTE TETRACHLORMETHANE INTOXICATION DEVELOPMENT IN RATS 47
- Lykhatska G.V. (Ternopil) CHANGES OF CLINICO- LABORATORY INDICES IN PATIENTS WITH ULCEROUS DISEASE WITH ACCOMPANIED LESIONS OF THE HEPATOBILIARY SYSTEM AND THEIR CORRECTION 52
- Davydova N.V. (Chernivtsi) EFFECT OF RHODIOLA ROSEA LIQUID EXTRACT ON THE STATE OF OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SISTEM OF RAT LIVER AND BLOOD UNDER CONDITION OF EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS 56
- Lyzogub V.G., Bondarchuk O.M., Briuzgina T.S. (Kyiv) CHANGES OF FATTY-ACID SPECTRUM OF ERYTHRO- CYTES IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASES AGAINST A BACKGROUND OF CHRONIC PANCREATITIS 60
- Fira L.S., Honsky Ya.I. (Ternopil) METABOLIC DISORDERS IN THE ORGANISM OF ANIMALS, POISONED BY NANO₂ 64

<i>Павиченко О.В., Каліман П.А.</i> (Харків) ГЕМОКСИГЕНАЗНА АКТИВНІСТЬ У СЕРЦІ ТА СУДИНАХ ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ	68	<i>Pavychenko O.V., Kaliman P.A.</i> (Kharkiv) HEMOXYGENASE ACTIVITY IN RAT HEART AND VESSELS AT CADMIUM CHLORIDE ADMINISTRATION
<i>Гнатюк М.С., Виллюк Л.Т.</i> (Тернопіль) БІОХІМІЧНІ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ В ПАТОГЕНЕЗІ УРАЖЕНЬ КЛУБОВОЇ КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ	72	<i>Hnatjuk M.S., Vykylyuk L.T.</i> (Ternopil) BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGIC ASPECTS IN PATHOGENESIS OF ILEUM AFFECTION AT DEATH-CUP POISONING
<i>Швед М.І., Вівчар Н.М., Вадзюк С.Н.</i> (Тернопіль) ПОРУШЕННЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ У ХВОРИХ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ В ПОЄДНАННІ З ОСТЕОАРТРОЗОМ	76	<i>Shved M.I., Vivchar H.M., Vadziuk S.N.</i> (Ternopil) LIPID PEROXIDATION DISORDERS AND THEIR CORRECTION IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND OSTEOARTHRISIS
<i>Дерпак Ю.Ю.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ РОЗВАНТАЖУВАЛЬНО-ДІЄТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ В ПОЄДНАННІ З α -ТОКОФЕРОЛОМ НА РІВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ХВОРИХ НА ОЖИРІННЯ ІЗ СУПРОВІДНОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ	81	<i>Derpak Yu.Yu.</i> (Ternopil) THE INFLUENCE OF FASTING DIETETIC THERAPY IN COMBINATION WITH α -TOCOPHEROL ON LIPID PEROXIDATION LEVEL IN BLOOD OF PATIENTS WITH OBESITY AND ACCOMPANIED ARTERIAL HYPERTENSION
<i>Максимюк Г.В., Воробець Д.З., Борис Ю.Б., Бойко М.І.</i> (Львів) ЗВ'ЯЗОК КОНЦЕНТРАЦІЇ ІОНІВ Ca^{2+} , K^+ , Na^+ З БІОЛОГІЧНОЮ ПОВНОЦІННІСТЮ СПЕРМАТОЗОЇДІВ	85	<i>Maksymjuk G.V., Vorobets D.Z., Borys Yu.B., Boyko M.I.</i> (Lviv) CONNECTION BETWEEN CONCENTRATIONS OF Ca^{2+} , K^+ , Na^+ AND SPERMATOOZOA BIOLOGICAL COMPETENCE
<i>Решетар О.І.</i> (Ужгород) ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ОКСИДНО-АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ОБСТРУКТИВНИЙ БРОНХІТ ПІД ВПЛИВОМ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ ТЕРАПІЇ	90	<i>Reshetar O.I.</i> (Uzhhorod) CHANGES OF INDICES OF OXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE BRONCHITIS UNDER INFLUENCE OF ULTRASONIC THERAPY
<i>Георгіянець В.А., Сич І.А.</i> (Харків) ВЗАЄМОДІЯ N,N'-ДИБЕНЗИЛАМІДУ БРОММАЛОНОВОЇ КИСЛОТИ З БІФУНКЦІОНАЛЬНИМИ АМІНАМИ – ШЛЯХ ДО НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН	95	<i>Georgiyants V.A., Sych I.A.</i> (Kharkiv) INTERACTION OF BROMOMALONIC ACID N,N'-DIBENZYLAMIDE WITH BIFUNCTIONAL AMINES – A PATHWAY TO THE NEW PHARMACOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES
КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ		
<i>Глуценко А.В.</i> (Київ) ЗМІНА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ ПІД ВПЛИВОМ НІФЕДИПІНУ	100	<i>Glushchenko A.V.</i> (Kyiv) CHANGE OF FATTY-ACID COMPOSITION OF LIPOPROTEINS IN BLOOD SERUM AT ISCHEMIC HEART DISEASE UNDER THE INFLUENCE OF NIFEDIPINE
<i>Павлова О.О., Кізуб І.В., Соловійов А.І.</i> (Київ) РОЛЬ ЕНДОТЕЛІУ У ФОРМУВАННІ СКОРОТЛИВИХ РЕАКЦІЙ СУДИННОЇ СТІНКИ ПІД ДІЄЮ ГІПОКСІЇ	103	<i>Pavlova O.O., Kizub I.V., Soloviov A.I.</i> (Kyiv) THE ROLE OF ENDOTHELIUM IN FORMATION OF VESSELS WALL CONTRACTING RESPONSES UNDER HYPOXIC CONDITION
<i>Мітін Ю.В., Шевчук Ю.В., Брюзгіна Т.С.</i> (Київ) ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ ЛІПІДІВ МИГДАЛИКІВ ПРИ ЇХ ПАТОЛОГІЇ	107	<i>Mitin Yu.V., Shevchuk Yu.V., Bruizgina T.S.</i> (Kyiv) FEATURES OF METABOLIC INJURIES OF TONSILS LIPIDS IN PATHOLOGICAL STATES
<i>Хворост О.П., Гречин П.В., Сербін А.Г.</i> (Харків) АНАТОМО-ГІСТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ПІДЗЕМНИХ ОРГАНІВ ВІЛЬХИ КЛЕЙКОЇ ТА СІРОЇ	110	<i>Hvorost O.P., Grechyn P.V., Serbin A.G.</i> (Kharkiv) ANATOMICAL AND HISTOCHEMICAL STUDY OF UNDERGROUND ORGANS OF ALDER CLUMMY AND GRAY
<i>Сазоненко Л.В., Вітовський Я.М., Брюзгіна Т.С., Вретик Г.М.</i> (Київ) ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ВАГІТНИХ З ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ	113	<i>Sazonenko L.V., Vitovsky Ya.M., Bruizgina T.S., Vretyk G.M.</i> (Kyiv) INVESTIGATION OF THE FATTY-ACID SPECTRUM CHANGES OF BLOOD SERUM LIPIDS IN PREECLAMPTIC PREGNANCIES
МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ		
<i>Георгіянець В.А.</i> (Харків) ОПТИМІЗАЦІЯ СИНТЕЗУ ПЕРСПЕКТИВНИХ ПРОТИСУДОМНИХ РЕЧОВИН S(-)-N,N'-ДИ-(1-ФЕНІЛЕТІЛ-)-АМІДІВ АЛКІЛМАЛОНОВИХ КИСЛОТ	116	<i>Georgiyants V.A.</i> (Kharkiv) OPTIMIZATION OF SYNTHESIS OF PROSPECTIVE ANTICONVULSANT SUBSTANCES – S(-)-N,N'-DI-(1-PHENYLETHYL-)-AMIDES OF ALKYL MALONIC ACIDS
<i>Васюк С.О., Коржова А.С.</i> (Запоріжжя) СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМОКСИЦИЛІНУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ	121	<i>Vasjuk S.O., Korzhova A.S.</i> (Zaporizhzhia) SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF AMOXYCILLIN IN DRUGS
ІНФОРМАЦІЯ, ХРОНІКА, ЮБІЛЕЇ		
<i>Гонський Я.І.</i> (Тернопіль) МИХАЙЛО ІВАНОВИЧ КАЛИНСЬКИЙ	126	<i>Honsky Ya.I.</i> (Ternopil) MYKHAILO IVANOVYCH KALYNSKY
BRIEF REPORTS		
METHODS OF BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS		
INFORMATION, CHRONICLE, JUBILEES		

УДК 612.17:616.45-001.1/3:577.155.08:599.323.4

ВПЛИВ ПЕНТОКСИФІЛІНУ НА ЛІПІДНИЙ СПЕКТР СЕРЦЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ЦИКЛОГЕКСИМІДУ*

С.В. Оксененко¹, П.А. Каліман²ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ, ХАРКІВ¹ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗИНА²

Вивчено вплив пентоксифіліну на процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та спектр ліпідів серця за умов введення циклогексиміду. Активацію ПОЛ визначали за вмістом основ Шифа, кетодієнів та сполучених триєнів, дієнових кон'югатів та ізолюваних подвійних зв'язків в гептан-ізопропанольних екстрактах. Дослідження спектра нейтральних ліпідів та фосфоліпідів проводили з використанням методів тонкошарової хроматографії та спектрофотометрії.

Отримані результати свідчать про те, що введення тваринам циклогексиміду викликає розвиток оксидативного стресу, який супроводжується зменшенням вмісту фосфатидилхоліну і фосфатидилінозиту та збільшенням – лізофосфатидилхоліну, сфінгомієліну, фосфатидової кислоти та триацилгліцеридів. Це, можливо, відбувається через зміни активності ліпідоперетворювальних ферментів. Введення за цих умов пентоксифіліну призводило до нормалізації швидкості утворення продуктів ПОЛ, але не попереджувало змін ліпідного спектра, що були викликані циклогексимідом. Встановлено, що вплив пентоксифіліну на спектр ліпідів може бути опосередкований циклічним аденозинмонофосфатом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, продукти перекисного окиснення ліпідів, оксидативний стрес, пентоксифілін, циклогексимід.

ВСТУП. Гальмування циклогексимідом трансляції викликає ряд порушень метаболічних процесів, серед яких і вплив на стан прооксидно-антиоксидної рівноваги [13]. Раніше в нашій лабораторії було показано, що введення циклогексиміду щурам призводить до активації вільнорадикального окиснення і розвитку оксидативного стресу [4]. Останній є основою етіології та патогенезу багатьох захворювань, зокрема серцево-судинних. При цьому спостерігаються активація ліполітичних ферментів та синтез цитокінів запалення, порушення роботи Na^+ , K^+ -АТФази, Ca^{2+} -АТФази та аденілатциклази [14]. Використання за таких умов антиоксиданта пентоксифіліну [8], який, крім того, підвищує рівень цАМФ у клітині та пригнічує синтез цитокіну запалення – ФНП- α , може бути доцільним для фармакологічної корекції інтенсивності процесів ПОЛ та ліпідного обміну, що викликані циклогексимідом.

Метою нашого дослідження було вивчення дії пентоксифіліну на спектр ліпідів та їх пероксидацію в серці щурів за умов введення циклогексиміду.

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

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували щурів-самців лінії Wistar, масою 150-180 г, яких утримували у віварії Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Тварин поділили на 4 групи:

1. Щури, яким вводили фізіологічний розчин (контрольна група).

2. Щури, яким вводили циклогексимід в дозі 0,2 мг/100 г маси тіла [13]. Тварин декапітували через 2 год.

3. Щури, які за 2 год до введення циклогексиміду отримували пентоксифілін з розрахунку 15 мг/100 г маси тіла [1]. Тварин декапітували через 4 год.

* У роботі прийнято такі скорочення й 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 – лізофосфатидилхолін, СМ – сфінгомієлін, ФХ – фосфатидилхолін, ФІ – фосфатидилінозитол, ФС – фосфатидилсерин, ФЕ – фосфатидилетаноламін, ФК – фосфатидова кислота, КЛ – кардіоліпін, ФНП – фактор некрозу пухлин, ОШ – основи Шифа, ІПЗ – ізолювані подвійні зв'язки, ДК – дієнові кон'югати, КД+СТ – кетодієни та сполучені триєни, цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат, АТФ – аденозинтрифосфат, ЛП – ліпопротеїни, ЖК – жирні кислоти.

4. Щури, яким вводили пентоксифілін. Тварин декапітували через 4 год. Усі ін'єкції проводили внутрішньочеревно. Маніпуляції з тваринами виконували під хлоразно-уретановим наркозом.

Тканини серця гомогенізували в фізіологічному розчині. Екстракцію ліпідів проводили за методом [9]. Загальні ліпіди фракціонували методом тонкошарової хроматографії на силікагелевих платівках "Sorbfil" у суміші гептан – діетиловий ефір – крижана оцтова кислота (60:40:2) [2], фосfolіпіди – в суміші хлороформ – етанол – вода – триетаноламін (30:35:7:35) [11]. Платівки 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 фенілгідразином [16], кількість ВЖК – за одержанням відповідних солей міді й наступною їх реакцією з діетилдитіокарбаматом [2], вміст ВХ і ЕХ – за реакцією з хлоридним залізом [6]. Результати виражали в мг/г тканини. Вміст ЗФЛ та окремих фосfolіпідних фракцій встановлювали за рівнем фосфору [15]. Результати виражали в мкгР/г тканини. Визначення вмісту таких показників ПОЛ, як ІПЗ, ДК, КД+СТ та ОШ [3, 7], проводили в гептан-ізопропанольних (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. Введення циклогексиміду викликає збільшення вмісту КД+СТ в НЛ, ОШ в ФЛ і НЛ. Як наслідок активації

ПОЛ спостерігається зменшення вмісту ІПЗ – субстратів ВРО в НЛ та ФЛ (рис. 1). Це свідчить про розвиток оксидативного стресу. Слід зазначити, що введення циклогексиміду прискорює пошкодження білків продуктами ПОЛ, на що вказує підвищення вмісту ОШ.

За цих умов відбуваються зміни спектра ліпідів (рис. 2), що свідчать про вплив циклогексиміду на метаболізм ліпідів. Встановлено, що циклогексимід викликає суттєве збільшення вмісту ТГ та ВЖК. Це може бути наслідком активації ліпопротеїнліпази, яка мобілізує пре-β-ЛП. Дане припущення підтверджується раніше встановленим у нашій лабораторії зниженням рівня головної транспортної форми ТГ – пре-β-ЛП у сироватці крові та печінці [4]. Зменшення вмісту ЕХ може відобразити використання резервної форми ХС для перебудови мембран.

Циклогексимід не викликає змін в концентрації ЗФЛ (рис. 3), але співвідношення між різними фракціями ФЛ змінюється (рис. 4): вміст ЛФХ збільшується, а ФХ – зменшується, що у сукупності зі зростанням рівня ВЖК може бути наслідком активації фосfolіпази A_2 [12]. Встановлені зміни спектра ліпідів під впливом циклогексиміду є характерними для розвитку стрес-реакції [5, 10]. Також підвищується рівень СМ, ФК та знижується – ФЕ. Крім того, можливо через активацію фосфатидилінозитольного шляху, зменшується вміст ФІ.

Введення пентоксифіліну впливає на спектр ліпідів, що підтверджується зниженням вмісту МГ, ДГ та ЕХ. Крім того, викликає зменшення рівня ФХ та підвищення – ЛФХ, що, можливо, відбувається через активацію фосfolіпази A_2 . Також при введенні пентоксифіліну збільшу-

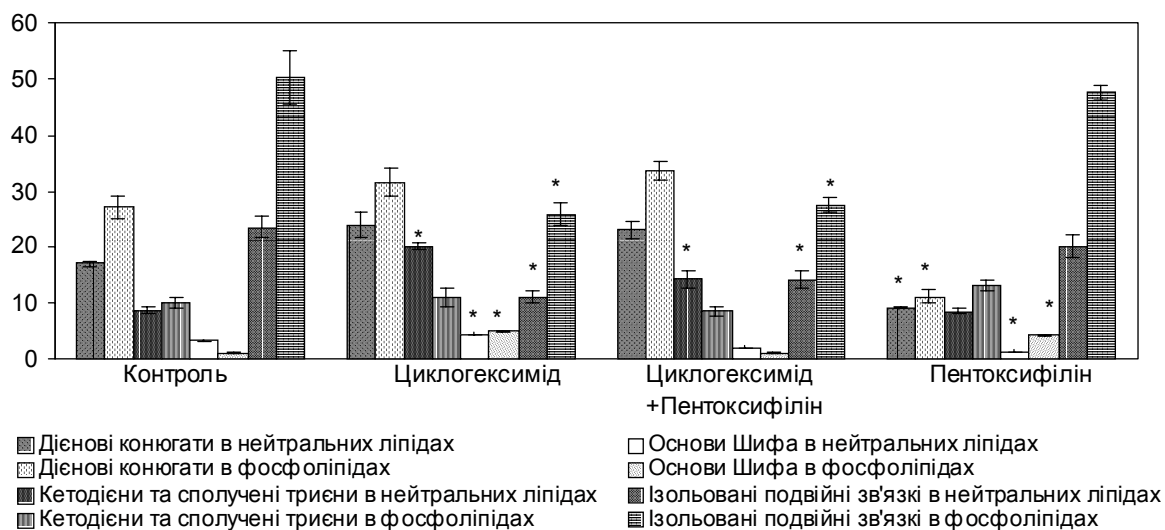


Рис. 1. Вплив пентоксифіліну на деякі показники перекисного окислення ліпідів серця за умов введення циклогексиміду $M \pm m$, $\Delta E/g$ тканини, $n=6$.

* – Вірогідні зміни у порівнянні з контролем ($p < 0.05$).

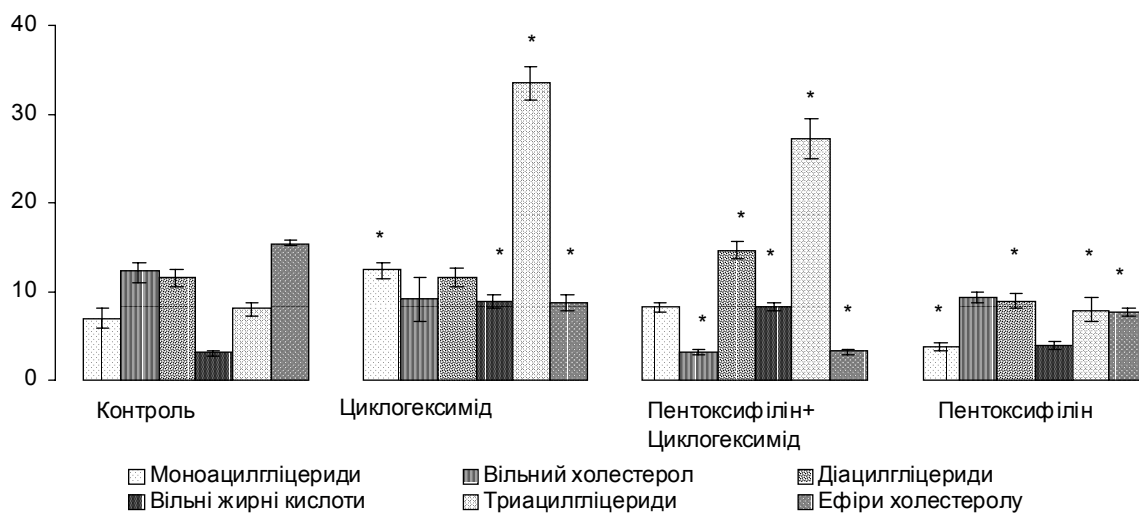


Рис. 2. Вплив пентоксифіліну на вміст деяких фракцій нейтральних ліпідів серця за умов введення циклогексими́ду, $M \pm m$, мг/г тканини, $n=6$.

* – Вірогідні зміни у порівнянні з контролем ($p < 0.05$).

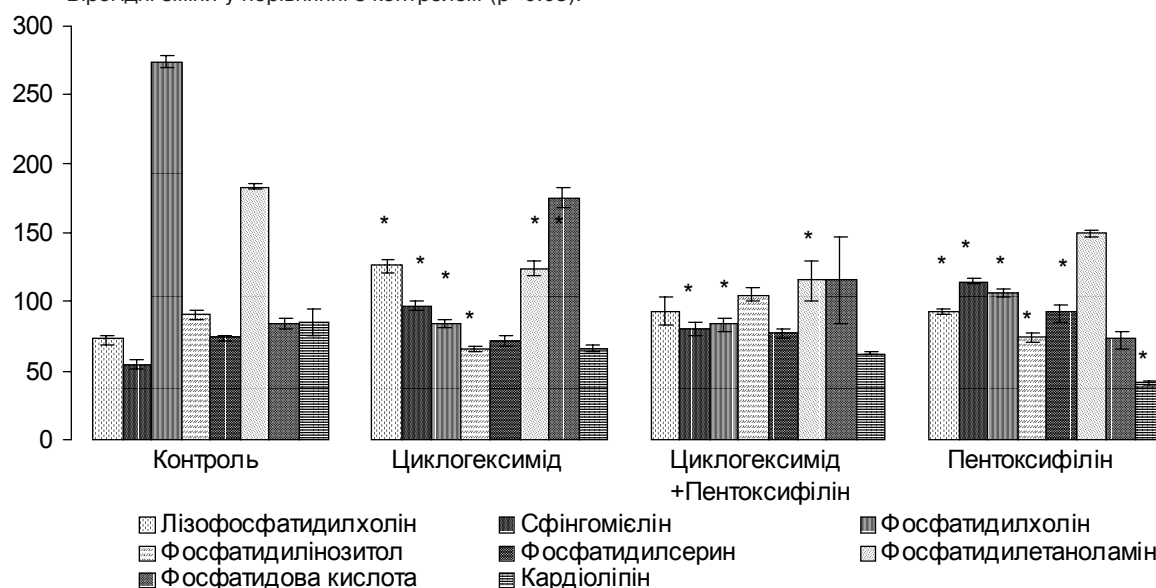


Рис. 4. Вплив пентоксифіліну на вміст деяких фосфоліпідних фракцій серця за умов введення циклогексими́ду, $M \pm m$, мкгР/г тканини, $n=6$.

* – Вірогідні зміни у порівнянні з контролем ($p < 0.05$).

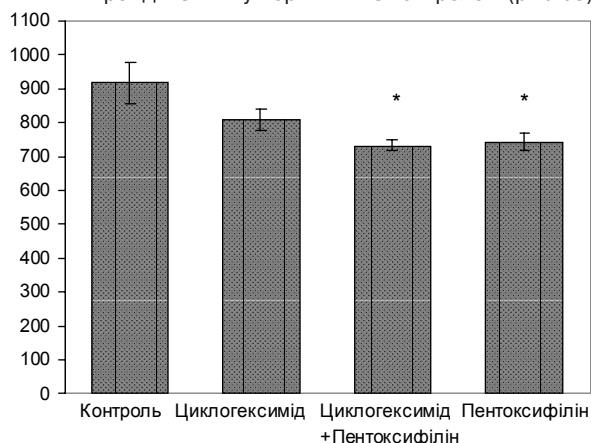


Рис. 3. Вплив пентоксифіліну на вміст загальних фосфоліпідів серця за умов введення циклогексими́ду, $M \pm m$, мкгР/г тканини, $n=6$.

* – Вірогідні зміни у порівнянні з контролем ($p < 0.05$).

ється концентрація СМ, ймовірно, через пригнічення активності сфінгомієлінази, наприклад лізосомальної, що, як відомо, активується ФНП- α [17]. Крім того, пентоксифілін викликає зниження рівня ФІ та підвищення – ФС.

Попереднє введення пентоксифіліну гальмувало зростання вмісту ОШ, яке було викликано циклогексимідом. Це свідчить про захисну дію пентоксифіліну у пошкодженні білків продуктами ПОЛ. За цих умов вміст ТГ та ВЖК, що був підвищений циклогексимідом, не стабілізувався. Рівень ВХ та ЕХ зменшувався більшою мірою, ніж при введенні кожної речовини окремо. Це вказує на те, що пентоксифілін та циклогексимід активують утилізацію ХС, впливаючи на різні ланки його обміну, що, можливо, відбувається через збільшення окиснення та/

або через прискорення виведення за участю α -ЛП. За умов сумісного введення циклогексиміду та пентоксифіліну вміст ЛФХ залишався підвищеним та зниженим був рівень ФХ, як і при введенні одного циклогексиміду, зростала концентрація СМ та знижувалась – ФЕ.

ВИСНОВКИ. Встановлено, що при введенні циклогексиміду спостерігається розвиток оксидативного стресу, який впливає на ліпідний спектр: збільшується вміст ТГ та ЛФХ,

знижується рівень ФХ і ФІ, що є характерним для розвитку стрес-реакції. Введення за цих умов пентоксифіліну стабілізувало інтенсивність процесів ПОЛ. Встановлено при цьому зменшення вмісту ізольованих подвійних зв'язків може розглядатися як структурний слід попередньої активації процесів ВРО. За цих умов пентоксифілін викликав стабілізацію концентрації деяких фосфоліпідних фракцій: ФС, ФІ, ФК. Вміст інших ФЛ залишався на рівні дії циклогексиміду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоусова І.П. Порівняльна ефективність похідних ксантину при гіпоксичному синдромі // Ліки. – 1998. – № 5. – С. 90-93.
2. Биологические мембраны. Методы: Пер. с англ./ Под ред. Дж.Б. Финдлея, У.Г. Эванза. – М.: Мир, 1990. – 424 с.
3. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – **35**, № 6. – С. 127-131.
4. Калиман П.А., Загайко А.Л. Вплив актиноміцину D і циклогексиміду на ліпопротеїни сироватки крові та цитозоль печінки щурів за оксидативного стресу // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 4. – С. 79-83.
5. Калиман П.А., Шаламов Р.В., Загайко А.Л. Влияние хлорида кобальта на содержание липидов и липопротеинов в печени и сыворотке крови крыс // Биохимия. – 1997. – **62**, № 7. – С. 850-857.
6. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Беларусь: Минск, 1982. – С. 241-242.
7. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопр. мед. химии. – 1991. – **37**, № 1. – С. 92-93.
8. Bhat V.B., Madyastha K.M. Antioxidant and radical scavenging properties of 8-oxo derivatives of xanthine drugs pentoxifylline and lisofylline // Biochem. Biophys. Res. Commun. J.C. Hepatology. – 2001. – **288**, № 5. – P. 1212-1217.
9. 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.
10. 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.
11. Leray C., Pelletier X., Hemmendinger S., Cazanave J.P. Thin-layer chromatography of human platelet phospholipids with fatty acid analysis // J. Chromatogr. – 1987. – **420**, № 2. – P. 411-416.
12. O'Brion J.B., Piddington D.L., Voelkel-Johnson C. et al. Cytosolic phosphorylation of cytosolic phospholipase A₂ accompanies cycloheximide- and adenovirus induced susceptibility to TNF // J. Immunol. – 1998. – **161**, № 3. – P. 1525-1532.
13. Pushpendran C.K., Devasagayam T.P., Eapen J. Age-related effect of cycloheximide on lipid peroxidation in rough and smooth microsomes of rat liver // Dev. Pharmacol. Ther. – 1983. – **6**, № 1. – P. 159-166.
14. Richter C. Oxidative Stress, Mitochondria, and Apoptosis // Biochem. Restor Neurol Neurosci. – 1998. – **12**, № 2, 3. – P. 59-62.
15. Sandhu R. Serum phospholipids without acid digestion // Clin. Chem. – 1976. – **2**, № 12. – P. 1973-1975.
16. Tixer M., Claude J. Une Technique simple et rapide de dosage des triglycerides // Ann. Biol. Clin. Ales. – 1974. – **32**, № 1. – P. 53-57.
17. Xu J., Yeh C., Chen S. et al. Involvement of de novo ceramide biosynthesis in Tumor Necrosis Factor- α Cycloheximide-induced cerebral endothelial cell death // J. Biol. Chem. – 1998. – **273**, № 26. – P. 16521-16526.

ВЛИЯНИЕ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА НА ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР СЕРДЦА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОГЕКСИМИДА

С.В. Оксененко¹, П.А. Калиман²
ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ¹
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА²

Резюме

Изучено влияние пентоксифиллина на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и спектр липидов сердца в условиях введения циклогексимида. Активацию ПОЛ определяли по содержанию оснований Шиффа, кетодиенов и сопряженных триенов, диеновых конъюгатов и изолированных двойных связей в гептан-изопропанольных экстрактах. Исследование спектра нейтральных липидов и фосфолипидов проводили с использованием методов тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение животным циклогексимида вызывает развитие оксидативного стресса, который сопровождается уменьшением содержания фосфатидилхолина и фосфатидилинозитола и увеличением – лизофосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидной кислоты и триацилглицеридов. Это, возможно, осуществляется путем изменений активности липидпревращающих ферментов. Введение в этих условиях пентоксифиллина приводило к нормализации скорости образования продуктов ПОЛ, но не предотвращало изменений липидного спектра, которые были вызваны циклогексимидом. Установлено, что влияние пентоксифиллина на спектр липидов может быть опосредованно циклическим аденозинмонофосфатом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, продукты перекисного окисления липидов, оксидативный стресс, пентоксифиллин, циклогексимид.

PENTOXIFYLLINE INFLUENCE ON HEART LIPID SPECTRUM OF RATS UNDER CYCLOHEXIMIDE ACTION

S.V. Oksenenko¹, P.A. Kaliman²
THERAPY INSTITUTE OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, KHARKIV¹,
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARASIN²

Summary

Pentoxifylline influence on processes of lipid peroxidation (LPO) and lipid spectrum of rat heart under cycloheximide action were investigated. The activation of LPO was determined by contents of Schiff bases, diene conjugates, ketodienes and conjugate trienes and isolated double bonds in heptane-isopropanol extracts. The spectrum of neutral lipids and phospholipids was investigated by thin-layer chromatography and spectrophotometry.

According data obtained the injection of cycloheximide to animals causes the development of oxidative stress, which is accompanied by decrease of contents of phosphatidilcholine and phosphatidilserine. Oxidative stress caused the increase of lisophosphatidilcholine, sphingomieline, phosphatidic acid and triglycerol levels. It was probably caused by change of activity of lipid-transforming enzymes. Pretreatment by pentoxifylline before cycloheximide, normalized the velocity of formation of LPO products, but didn't prevent the changes of lipid spectrum caused by cycloheximide. The influence of pentoxifylline on lipid spectrum might be caused by cyclic adenosinemonophosphate.

KEY WORDS: lipids, products of lipid peroxidation, oxidative stress, pentoxifylline, cycloheximide.

Отримано 15.04.2003 р.

Адреса для листування: П.А. Калиман, Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, біологічний факультет, пл. Свободи, 4, Харків, 61202, Україна.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ЕЙЗЕНМЕНГЕРА ТА ПЕРВИННОЮ ЛЕГЕНЕВОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

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

Уперше проведено вивчення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та загальної антиокиснювальної активності (АОА) в плазмі та еритроцитах крові хворих з первинною легеневою гіпертензією (ПЛГ) та синдромом Ейзенменгера (СЕ). Показано, що у таких хворих з серцевою недостатністю (СН) I-IV класів за NYHA значно активуються процеси ПОЛ в плазмі та еритроцитах крові, а також знижується АОА в плазмі крові. При збільшенні важкості СН в обох групах пацієнтів активували процеси ПОЛ. Направленість та вираження змін вільнорадикальних процесів в плазмі і еритроцитах крові хворих на ПЛГ та СЕ свідчать про наявність у цих захворювань загальних патогенетичних механізмів.

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

ВСТУП. Вільнорадикальне окиснення за умов патологічних станів призводить до порушення структури та функції біомембран, проникності мембран для різних субстратів, метаболітів, іонів тощо [4, 8, 10, 15-17]. Нині накопичується інформація про участь вільнорадикальних процесів у патогенезі ішемічних ушкоджень міокарда [1, 4, 13, 15]. 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 із стенокардією та атеросклерозом [2, 7, 14].

Існують клінічні та експериментальні дані про існування зворотної кореляційної залежності вмісту антиоксидантів у крові та ризику розвитку ішемічної хвороби серця [15].

Васкулярно-легенева гіпертензія належить до одного з найбільш рідкісних і маловивчених захворювань серцево-судинної системи [1, 5, 6, 9, 13]. Вона спостерігається переважно у осіб молодого віку, швидко прогресує і призводить до смерті. В той же час, рання діагностика і своєчасно розпочата раціональна терапія васкулярно-легеневої гіпертензії можуть сприяти помітному покращанню стану і поліпшенню виживання даної групи хворих.

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

Метою цієї роботи було вивчення зміни стану перекисного окиснення ліпідів та загальної антиокиснювальної активності в плазмі й еритроцитах крові хворих з ПЛГ та СЕ з різним ступенем важкості СН.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для досліджень були 36 хворих з ПЛГ і 26 пацієнтів з вродженими вадами серця у фазі синдрому Ейзенменгера з СН I-II класів за NYHA, а також III-IV класів. Хворі проходили лікування в кардіологічному центрі ЦМКЛ, більшість (76,9 %) становили жінки, середній вік пацієнтів – (18,2±3,8) року. Діагноз встановлювали на основі клінічних, інструментальних (ЕКГ у 12 відведеннях, рентгенографія органів грудної порожнини, доплерехокардіографія) та лабораторних методів дослідження. Систолічний тиск у легеневій артерії, за даними доплерівського дослідження транстрикуспідального кровотоку складав у середньому (65,4±37,4) мм рт. ст. Як контроль було використано дані практично здорових людей тієї самої вікової групи. Забір крові проводили в клініці з дотриманням відповідних правил. Розділяли еритроцити та плазму крові методом [3]. Загальну АОА в плазмі крові вивчали з застосуванням ліпопротеїнів жовтка *in vitro* методом [12]. Вивчення рівня ПОЛ – НАДФН-залежного (НЗП), аскорбатозалежного (АЗП) і спонтанного, або неініційованого (НІП), – у плазмі та еритроцитах крові проводили за

накопиченням малонового діальдегіду (МДА), який визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою [8] з деякими модифікаціями: депротейнізацію та зупинку реакції ПОЛ здійснювали шляхом додавання суміші 10 % ТХО з 10-2М ЕДТА [10]. Дані обробляли варіаційно-статистичним методом з використанням критерію t Стьюдента та коефіцієнта кореляції r.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як показали проведені клінічні обстеження хворих на ПЛГ з СЕ, в усіх осіб відмічалась задишка при збільшенні навантаження, в багатьох – також серцебиття, біль у ділянці серця, запаморочення, у 33,3 % пацієнтів мали місце синкопальні стани. При об'єктивному дослідженні найчастішими змінами були: помірне збільшення розмірів серця (100 %) та ціаноз (27 %). Незважаючи на вираження васкулярно-легеневої гіпертензії, "класичні" клінічні ознаки правощлуночкової недостатності – набухання шийних вен, периферичні набряки та збільшення печінки – відмічались у цілому менше ніж у половини хворих. Характер клінічних проявів та їх вираження в обстежуваних пацієнтів збігаються з даними літератури [5, 6, 11].

Біохімічні дослідження показали, що у пацієнтів з ПЛГ та СЕ значно активувалися процеси ПОЛ в плазмі та еритроцитах крові. Разом із цим, при більш вираженій СН відбувалася значна активація процесів ПОЛ у хворих як з ПЛГ, так і з СЕ.

Як свідчать дані таблиць 1-2, в плазмі крові обстежуваних осіб перебігало аскорбатозалежне та неініційоване ПОЛ. У хворих з ПЛГ I-II класів за NYHA АЗП у плазмі крові збільшувалося в 2,6 раза, а НІП – в 1,5 раза порівняно з контрольною групою. АЗП у плазмі крові пацієнтів з ПЛГ I-II класів за NYHA складало (7,38±0,26) ммоль МДА/л, а НІП – (3,79±0,33) ммоль МДА/л. У хворих з ПЛГ III-IV класів за NYHA значно більше, ніж у контрольній групі, активували процеси ПОЛ у плазмі крові, а також спостерігалися достовірні зміни ПОЛ порівняно

з пацієнтами з ПЛГ I-II класів за NYHA. АЗП у плазмі крові цих хворих збільшувалося у 3,4 раза, а НІП – у 1,9 раза порівняно з контрольною групою (p<0,01). У пацієнтів з ПЛГ III-IV класів за NYHA спостерігалася достовірно (p<0,01) більша, ніж у хворих з ПЛГ I-II класів за NYHA, активація АЗП та НІП у плазмі крові (в 1,4 та 1,3 раза). АЗП у плазмі крові хворих з ПЛГ III-IV класів за NYHA складало (10,15±0,25) ммоль МДА/л, а НІП – (5,12±0,25) ммоль МДА/л.

АЗП у плазмі крові хворих з СЕ I-II класів за NYHA достовірно активувалося в 2,9 раза, а НІП – в 1,6 раза порівняно з контрольною групою (р<0,01; р<0,05 відповідно).

АЗП складало (8,40±0,16) ммоль МДА/л, а НІП – (4,27±0,63) ммоль МДА/л.

Нами проведено дослідження накопичення продуктів ПОЛ в мембранах еритроцитів венозної крові хворих з ПЛГ та СЕ (табл. 3-4).

В еритроцитах крові перебігає НАДФН-, аскорбатозалежне та неініційоване ПОЛ.

При ПЛГ з СН I-II класів за NYHA достовірно (p<0,05) в 1,8 раза збільшувало НІП в еритроцитах крові хворих і складало (3,27±0,21) ммоль МДА/л. За цих же умов НЗП та АЗП вірогідно не змінювалися, відношення АЗП/НЗП також не змінювалося (p>0,05). У хворих з ПЛГ із СН III-IV класів за NYHA, порівняно із здоровими, в еритроцитах збільшувалося не тільки НІП, але й НЗП АЗП: відповідно, у 2,0, 1,5 та 1,2 раза (p<0,05). При цьому достовірно зменшувалося відношення АЗП/НЗП (p<0,05), чого не відмічалось у пацієнтів із СН I-II класів за NYHA. НЗП при ПЛГ III-IV класів за NYHA складало (6,13±0,37) ммоль МДА/л, НІП – (3,36±0,20) ммоль МДА/л, АЗП – (4,66±0,14) ммоль МДА/л. Із збільшенням вираження СН у хворих з ПЛГ відмічалось значне активування НЗП при відсутності наступного підвищення вираження НІП, а також незначне зростання АЗП. При збільшенні СН у хворих з ПЛГ III-IV класів за NYHA достовірно знижувалося відношення АЗП/НЗП, що також свідчить про значну активацію НЗП.

Таблиця 1 – Порівняльна оцінка показників ПОЛ у плазмі крові хворих із СЕ та ПЛГ з різним вираженням СН

Показники	Контроль, n=23 (1)	СЕ, I-II класи за NYHA, n=9 (2)	ПЛГ, I-II класи за NYHA, n=16 (3)	p ₂₋₃
АЗП, ммоль МДА/л	4,03±0,16	8,40±0,25*	7,38±0,26*	>0,05
НІП, ммоль МДА/л	2,60±0,20	4,27±0,53*	3,79±0,33*	>0,05

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – різниця достовірна порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2 – Порівняльна оцінка показників ПОЛ у плазмі крові хворих із СЕ та ПЛГ з СН III-IV класів за NYHA

Показники	Контроль, n=23 (1)	СЕ, III-IV класи за NYHA n=12 (2)	ПЛГ, III-IV класи за NYHA n=20 (3)	p ₂₋₃
АЗП, ммоль МДА/л	4,03±0,16	9,85±0,66*	10,03±0,25*	>0,05
НІП, ммоль МДА/л	2,60±0,20	4,60±0,71*	5,12±0,53*	>0,05

Таблиця 3 – Порівняльна оцінка показників ПОЛ в еритроцитах крові хворих із СЕ та ПЛГ I-II класів за НУНА

Показники	Контроль, n=23 (1)	СЕ, I-II класи за НУНА, n=9 (2)	ПЛГ, I-II класи за НУНА, n=16 (3)	p ₂₋₃
НІП, ммоль МДА/л	1,77±0,21	3,00±0,47*	3,27±0,21*	>0,05
НЗП, ммоль МДА/л	4,13±0,17	4,20±0,35	4,45±0,29	>0,05
АЗП, ммоль, МДА/л	3,95±0,36	4,32±0,93	4,37±0,33	>0,05
АЗП/НЗП, ммоль МДА/л	0,95±0,07	1,00±0,15	0,97±0,08	>0,05

Таблиця 4 – Порівняльна оцінка показників ПОЛ в еритроцитах крові хворих із СЕ та ПЛГ III-IV класів за НУНА

Показники	Контроль, n=23 (1)	СЕ, III-IV класів за НУНА, n=12 (2)	ПЛГ, III-IV класів за НУНА, n=20 (3)	p ₂₋₃
НІП, ммоль МДА/л	1,77±0,21	3,56±0,34*	3,60±0,22*	>0,05
НЗП, ммоль МДА/л	4,13±0,17	5,90±0,40*	6,13±0,37*	>0,05
АЗП, ммоль МДА/л	3,95±0,26	4,94±0,35*	4,66±0,14*	>0,05
АЗП/НЗП, ммоль МДА/л	0,95±0,07	0,83±0,06*	0,71±0,05*	>0,2

У пацієнтів із СЕ III-IV класів за НУНА, порівняно із здоровими, достовірно збільшувався у 2 рази НІП в еритроцитах крові (p<0,05), НЗП – в 1,4 рази (p<0,05), АЗП – в 1,25 рази. Відношення АЗП/НЗП складало 0,83±0,06. У хворих із СЕ з СН III-IV класів за НУНА спостерігалася подальша активація НІП, НЗП та АЗП в еритроцитах крові порівняно з пацієнтами із СЕ I-II класів за НУНА (p<0,05).

Порівнюючи між собою показники стану процесів ПОЛ в еритроцитах крові хворих із СЕ та ПЛГ I-II класів за НУНА, а також СЕ та ПЛГ III-IV класів за НУНА, ми прийшли до висновку, що процеси ПОЛ в даних групах пацієнтів перебігають на одному рівні. Це може свідчити про однакову роль активації ПОЛ в патогенезі даних двох форм судинної легеневої гіпертензії.

У ході наших досліджень також було показано, що в умовах васкулярно-легеневої гіпертензії в плазмі крові знижується загальна антиокиснювальна активність. Для визначення зв'язку між показниками процесів ПОЛ і загальною АОА в крові визначали коефіцієнт

кореляції "r". Між АОА та процесами ПОЛ у крові існує обернено пропорційна кореляційна залежність, яка підсилюється залежно від тяжкості захворювання. Зниження вмісту антиоксидантів та підвищення ПОЛ у хворих з ПЛГ та СЕ можуть мати значення як для виникнення пошкодження судин малого кола кровообігу, так і для прогресування серцевої недостатності.

ВИСНОВКИ. 1. У хворих з ПЛГ та СЕ значно активуються процеси ПОЛ в плазмі та еритроцитах крові, особливо при збільшенні вираження серцевої недостатності.

2. У плазми крові пацієнтів хворих з ПЛГ та СЕ знижується загальна антиокиснювальна активність, що свідчить про зрив механізмів компенсації порушень вільнорадикальних процесів.

3. Однакові направленість та вираження змін вільнорадикальних процесів в плазмі та еритроцитах крові хворих з ПЛГ та СЕ вказують на наявність у цих захворювань загальних патогенетичних механізмів.

ЛІТЕРАТУРА

- Амосова Е.Н. Клиническая кардиология. – К., 1998. – 1. – 710 с.
- Амосова Е.Н. Сердечная недостаточность: от новых аспектов патогенеза к совершенствованию диагностики и новым целям лечения // Лікування та діагностика. – 2000. – № 2. – С. 7-12.
- Ангельскі С., Якубовскі З., Домінічак М.Г. Клінічна біохімія. – Сопот, 1998. – 452 с.
- 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.
- Беленков Ю.Н., Чазова И.Е. Первичная легоч-

- ная гипертензия. – М.: Медицина, 1999. – 141 с.
- Белоконь Н.А., Подзолков В.П. Врожденные пороки сердца. – М.: Медицина, 1991. – 350 с.
- Бурлакова Е.Б. Молекулярные механизмы действия антиоксидантов при лечении сердечно-сосудистых заболеваний // Кардиология. – 1980. – № 8. – С. 48-52.
- Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 243 с.
- Ганс Банкл. Врожденные пороки сердца и крупных сосудов. – М.: Медицина, 1980. – 310 с.
- Губский Ю.И. Регуляция перекисного окисления липидов в биологических мембранах // Биохимия животных и человека. – 1978. – 2. – С. 72-83.

11. Губський Ю.І., Юрженко Н.М. Антиоксидантні властивості препаратів 1,4-дигідропіридинового ряду // Одеський медичний журнал. – 1998. – № 4. – С. 66-70.

12. 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.

13. 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 // Врач. дело. – 1991. – № 10. – С. 50-52.

14. Кудрин А.Н., Смолинский В.С., Коган А.Х.,

Абиндер А.А. Антиоксиданты в терапии экспериментальной ишемии миокарда и ишемической болезни сердца // Кардиология. – М.: Медицина, 1988. – № 7. – С. 115-120.

15. Сорокіна І. Роль вільнорадикальних процесів у патогенезі ішемічної хвороби серця, артеріальної гіпертензії та їх корекція // Ліки України. – 2003. – № 2. – С. 18-19.

16. 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. Mol. Cell. Cardiol. -1984. – 16. – P. 969-985.

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

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ЭЙЗЕНМЕНГЕРА И ПЕРВИЧНОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

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

Резюме

Впервые проведено изучение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общей антиокислительной активности (АОА) в плазме и эритроцитах крови больных с первичной легочной гипертензией (ПЛГ) и синдромом Эйзенменгера (СЭ). Показано, что у таких больных с сердечной недостаточностью (СН) I-IV классов за NYHA значительно активируются процессы ПОЛ в плазме и эритроцитах крови, а также снижается АОА в плазме крови. При увеличении тяжести СН в обеих группах пациентов активировались процессы ПОЛ. Направленность и выраженность изменений свободно-радикальных процессов в плазме и эритроцитах крови больных с ПЛГ и СЭ свидетельствуют о наличии у этих заболеваний общих патогенетических механизмов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **первичная легочная гипертензия, синдром Эйзенменгера, перекисное окисление липидов, общая антиокислительная активность.**

COMPARATIVE ESTIMATION OF PARAMETERS THE LIPID PEROXIDATION PROCESSES OF BLOOD AT PATIENTS WITH SYNDROME EYZENMENGERS AND PRIMARY PULMONARY HYPERTENSION

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

Summary

For the first time studying the Lipid Peroxidation Processes and by the common antioxidative activity plasmas and erythrocytes blood of patients Primary Pulmonary Hypertension and Syndrome Eyzenmengers is lead. It has been shown, that at patients Primary Pulmonary Hypertension and Syndrome Eyzenmengers with intermediate insufficiency NYHA I-IV processes the Primary Pulmonary Hypertension in plasma and erythrocytes blood are considerably activated, and also reduced antioxidative activity plasmas of blood. At increase in weight NYHA I-IV at both groups of patients activation the Lipid Peroxidation Processes increased. The orientation and expressiveness of changes of processes in plasma and erythrocytes blood of patients Primary Pulmonary Hypertension and Syndrome Eyzenmengers testifies about presence at these diseases of the common pathogenetic mechanisms.

KEY WORDS: **Lipid Peroxidation Processes, Primary Pulmonary Hypertension, Syndrome Eyzenmengers, antioxidative activity.**

Отримано 12.06.2003 р.

Адреса для листування: Є.М. Задорін, пр. Правди, 6-А, кв. 136, Київ-108, 04108, Україна.

ВИВЧЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ЗАСОБУ “ПОЛЛЕНТАР”

О.Я. Міщенко¹, С.Ю. Штриголь¹, Л.В. Яковлева¹, А.В. Садін², Т.Р. Гришина²
 НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ¹
 ІВАНОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ, ІВАНОВО²

Фармакологічний засіб “Поллентар” у дозі 50 мг/кг при профілактичному введенні на моделі глобальної церебральної ішемії у 2 рази підвищує виживаність щурів порівняно з контрольною групою та відновлює мозковий кровообіг, тобто проявляє виразну церебропротекторну дію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: церебральна ішемія, квітковий пилок, бурштинова кислота, засіб “Поллентар”, церебропротекторна активність.

ВСТУП. Фармакологічна регуляція гострого та хронічного порушень мозкового кровообігу належить до найважливіших проблем медицини, оскільки такі захворювання є однією з провідних причин інвалідизації та смертності населення. Показники захворюваності та летальності внаслідок церебрального інсульту за останнє десятиліття вийшли на одне з перших місць поряд з травмами та кардіоваскулярними захворюваннями. Поширеність цереброваскулярних захворювань, у тому числі гострих порушень мозкового кровообігу, з віком збільшується приблизно у 2 рази з кожним наступним десятиліттям [8].

У зв'язку з цим пошук, розробка та використання церебропротекторних препаратів, які впливають на різні ланки патогенезу гіпоксії та ішемії головного мозку, є актуальними.

У терапії цереброваскулярних захворювань використовують комплекс препаратів з різною направленістю дії, перш за все вазоактивні й ноотропні препарати, антигіпоксанти та антиагреганти, лікарські засоби з нейротрансмітерним, нейротрофічним та нейромодуляторним ефектами [2, 8, 10]. Враховуючи дані літератури про те, що такий відомий природний продукт, як квітковий пилок (КП), використовують у малих дозах для активізації та реабілітації розумової і фізичної діяльності при різних формах виснаження організму [1, 5], а бурштинова кислота є могутнім енергізатором

© О.Я. Міщенко, С.Ю. Штриголь – д.мед.н., проф., Л.В. Яковлева – д.фарм. н., проф., А.В. Садін – к.мед.н., Т.Р. Гришина – к.мед.н., 2003.

та антигіпоксантом [6, 7], з метою доклінічного вивчення фармакодинамічних властивостей було актуальним оцінити церебропротекторний ефект нового комбінованого засобу адаптогенної дії “Поллентар”, що містить квітковий пилок та бурштинову кислоту.

Метою даного дослідження стало вивчення впливу засобу “Поллентар” на виживаність тварин у тесті експериментальної глобальної церебральної ішемії та стан мозкового кровообігу в умовах каротидної оклюзії методом лазерної доплерівської флоуметрії [2].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 63 білих нелінійних щурах-самцях масою 200-250 г, яких поділили на три групи. Тварини однієї групи (n=11) профілактично протягом 14 днів одержували внутрішньошлунково засіб “Поллентар” у дозі 50 мг/кг. Використана доза “Поллентару” проявляє адаптогенну дію [4]. Іншій групі щурів (n=8) внутрішньошлунково вводили препарат порівняння “Пірацетам” (виробництва Борщагівського ХФЗ) у дозі 200 мг/кг, також у профілактичному режимі. Доза “Пірацетаму” є адекватною для експериментальної оцінки церебропротекторного ефекту [2]. Тварини контрольної групи (n=44) протягом зазначеного терміну одержували еквівалентний об'єм дистильованої води. Глобальну церебральну ішемію відтворювали у щурів під нембуталовим наркозом (40 мг/кг, внутрішньоочеревинно), перев'язуючи обидві загальні сонні артерії. У даних умовах кровопостачання головного мозку відбувається

тільки за рахунок хребетних артерій. На тлі щоденного введення препаратів спостерігали за виживаністю тварин. Статистичний аналіз одержаних результатів проводили з використанням критерію χ^2 .

Вплив засобу "Поллентар" на стан церебрального кровотоку досліджували у наркотизованих щурів після 14-денного профілактичного введення. У щурів після трепанації черепа за допомогою бормашини на поверхнютім'яної ділянки лівої півкулі встановлювали голковий датчик "N" (діаметр – 0,8 мм) лазерного доплерівського флоуметра BLF 21 (Transonic Systems Inc., США). Фонові показники мозкового кровообігу вимірювали після 10-15-хвилинної адаптації тварин до умов експерименту, після чого моделювали глобальну церебральну ішемію та реєстрували кровопостачання головного мозку протягом 60 хв. Статистичний аналіз результатів даного експерименту проводили з використанням критерію t-Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз одержаних даних (табл. 1) свідчить про те, що в контрольній групі за першу добу загинуло більше половини (59 %) щурів з церебральною ішемією. Далі протягом 4-х днів кількість

загиблих тварин зростала. Загальна виживаність щурів у контрольній групі склала 27 %. У групі, яка одержувала "Поллентар", після загибелі 36 % тварин протягом 1-ї доби подальшого збільшення рівня смертності не спостерігали аж до 6-ї доби. На 5-й день підвищення виживаності щурів під дією "Поллентару" набуло статистичної значущості проти контрольного показника. Максимальна тижнева виживаність тварин у даній групі склала 55 %. Протекторний ефект препарату порівняння "Пірацетам" був менш вираженим, ніж "Поллентару", та мав статистично недостовірний характер відносно контрольної групи. Протягом 1-ї доби загинуло 50 % щурів, яким вводили "Пірацетам", а тижнева виживаність склала тільки 38 %.

Отже, "Поллентар" проявляє виражену протекторну дію на моделі глобальної церебральної ішемії у щурів: у 2 рази підвищує виживаність тварин порівняно з контрольним показником. За ефективністю він переважає ноотропний препарат "Пірацетам", який сприяє підвищенню виживаності експериментальних тварин лише в 1,4 раза.

Результати дослідження впливу препарату на стан мозкового кровообігу представлено в таблиці 2.

Таблиця 1 – Вплив препаратів "Поллентар" та "Пірацетам" на виживаність щурів з глобальною церебральною ішемією

Термін спостереження	Групи тварин		
	Контроль, (n=44)	"Поллентар" (n=11)	Пірацетам (n=8)
	Кількість/% тварин, які вижили		
1-ша доба	18/41	7/64	4/50
2-га доба	17/39	7/64	4/50
3-тя доба	14/32	7/64	3/38
4-та доба	13/30	7/64	3/38
5-та доба	12/27	7/64*	3/38
6-та доба	12/27	6/55	3/38
7-ма доба	12/27	6/55	3/38

Примітка. * – відхилення достовірні порівняно з контрольною групою ($p \leq 0,05$); n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2 – Вплив "Поллентару" на мозковий кровообіг щурів в умовах глобальної церебральної ішемії

Термін спостереження	Групи тварин			
	Контроль (n=7)		"Поллентар" (n=7)	
	Кровопостачання, мл/хв/100 г	% кровопостачання відносно вихідних даних	Кровопостачання, мл/хв/100 г	% кровопостачання відносно вихідних даних
Вихідні дані	32,16±6,21	100	36,11±9,73	100
1-ша хвилина	16,36±5,10	50,8	17,69±6,55	48,9
10-та хвилина	16,64±5,59	51,7	19,89±6,20	55,1
20-та хвилина	18,20±7,12	56,6	20,69±3,33	57,3
30-та хвилина	19,61±10,01	60,9	23,87±3,69	66,1
60-та хвилина	15,27±6,39	47,5	30,57±2,96*	84,7

Примітка. * – відхилення достовірні порівняно з контрольною групою ($p \leq 0,05$); n – кількість тварин у групі.

Базальний рівень кровопостачання тім'яної частки головного мозку в щурів, які одержували "Поллентар", був у середньому на 12,3 % вищим, ніж у контрольній групі. Після перев'язування загальних сонних артерій в обох групах на 1-й хвилині спостерігалось статистично значуще зниження кровопостачання парієтального неокортексу. На 60-й хвилині експерименту в контрольній групі реєстрували зменшення кровопостачання на 52 % порівняно з вихідними даними. У групі тварин після введення "Поллентару" зниження кровообігу тім'яної ділянки кори головного мозку було більш короткочасним, ніж у щурів контрольної групи. Відновлення порушеного кровопостачання під дією цього препарату мало динамічний прогресивний характер і на 60-й хвилині склало 84,7 % від вихідного рівня, що у 2 рази вище порівняно з аналогічним показником контрольної групи ($p < 0,05$).

Отже, в умовах глобальної церебральної ішемії профілактичне введення "Поллентару" сприяло достовірному відновленню кровопостачання головного мозку на 60-й хвилині експерименту.

Таким чином, дані обох дослідів свідчать про виражену церебропротекторну дію засобу "Поллентар" при профілактичному введенні.

Першими метаболічними зрушеннями, які викликає церебральна ішемія, є підвищення рівня молочної кислоти та розвиток внутрішньоклітинного ацидозу. Це призводить до порушення погодженої роботи антиоксидних ферментів, накопичення перекису водню, зростання концентрації вільних радикалів [11].

Ішемія головного мозку сприяє швидкому виснаженню антиоксидної системи, що спричиняє більш ранне, ніж в інших органах, підвищення концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [9, 11]. Доведено, що в умовах каротидної обструкції у щурів антиоксиданти спроможні підвищувати виживаність і гальмувати накопичення продуктів ПОЛ [12]. Відповідно до цього, механізм церебропротекторної дії "Поллентару", ймовірно, реалізується завдяки антиоксидним та антигіпоксичним властивостям препарату [3, 4], що призводить до зменшення ішемії і корекції метаболізму мозку.

Метаболічні властивості препарату зумовлені наявністю регулятора енергетичного обміну – бурштинової кислоти та комплексом біологічно активних речовин квіткового пилку. Це фенольні сполуки, які забезпечують антиоксидну та мембранопротекторну дії, метаболічні субстрати: амінокислоти, вітаміни, фосфоліпіди, вуглеводи, що регулюють обмінні процеси в тканинах; макро- та мікроелементи, необхідні для нормального функціонування ферментативних систем [1, 4]. З'ясування особливостей механізму дії "Поллентару" є предметом наших наступних досліджень.

ВИСНОВОК. Засіб "Поллентар" при профілактичному введенні проявляє церебропротекторну дію: у 2 рази підвищує, порівняно з контрольним показником, виживаність тварин в умовах глобальної церебральної ішемії та відновлює кровопостачання головного мозку з 47,3 % до 84,7 % від вихідного рівня.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волошин О.І., Пішак О.В., Сенюк Б.П. та ін. Пилок квітковий (бджолина обніжка): клініко-експериментальні аспекти застосування у медицині // Ліки. – 1998. – № 3. – С. 31-38.
2. Гаевый М.Д., Погорельый В.Е., Аджиенко Л.М., Приходько А.К. Фармакологическая коррекция пост-ишемических цереброваскулярных нарушений // Фармакологическая регуляция тонуса сосудов / Под ред. П.А. Галенко-Ярошевского. – М.: Изд-во РАМН, 1999. – С. 451-509.
3. Міщенко О.Я. Фармакологічне вивчення нового адаптивного засобу на основі продуктів бджільництва // Апітерапія: погляд у майбутнє: Мат. II з'їзду апітерапевтів України (31 жовтня-1 листопада 2002 р., Харків) / За ред. В.П. Черниха, О.І. Тихонова, Т.Г. Ярних. – Харків: Вид-во НФаУ "Золоті сторінки", 2002. – С. 266-272.
4. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В., Лелека М.В. Експериментальне вивчення впливу нового адаптивного засобу "Поллентар" на витривалість щурів // Мед. хімія. – 2002. – № 4. – С. 48-51.
5. Печенюк І.В. Механізм дії спиртового екстракту бджолиного пилку на обмін речовин в нормі та при експериментальній патології: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1993. – 21 с.
6. Смирнов А.В. Антигіпоксанти і актопротекторы: итоги и перспективы. – С.Пб., 1994. – Вып. III. – С. 164.

7. Трифонова О.Ю., Смирнова Н.Б., Хазанов В.А. Клинико-экспериментальные данные применения регулятора энергетического обмена “Янтарь-кардио фито” // Регуляторы энергетического обмена (материалы симпозиума) / Под ред. В.А. Хазанова. – М., 2002. – С. 50-56.

8. Трошин В.Д., Трошин В.М. Острые нарушения мозгового кровообращения. – Н.Новгород: Сарпи, 1993. – 272 с.

9. Demopoulos H.B., Flamm E.S., Pietronigro D.D. et al. Regulation of microcirculation in the brain // Acta Physiol. Scand. Suppl. – 1980. – № 492. – P. 91-119.

10. Fleishaker J.C., Hulst Z.C., Peters G.R. Multi-dose tolerability and pharmacokinetics of tirilazad mesilate at doses of up to 10 mg/kg/day administered over 5-10 days in healthy volunteers // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 1994. – **32**, № 5. – P. 223-230.

11. Opie L.H. The heart. Physiology from cell to circulation. – Philadelphia, N.Y., 1997. – P. 115-120.

12. Yamamoto M., Shima T., Uozumi T. et al. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and the protective effect of alpha-tocopherol administration // Stroke. – 1983. – **14**, № 6. – P. 977-982.

ИЗУЧЕНИЕ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СРЕДСТВА “ПОЛЛЕНТАР”

О.Я. Мищенко¹, С.Ю. Штрыголь¹, Л.В. Яковлева¹, А.В. Садин², Т.Р. Гришина²
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ¹
ИВАНОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ, ИВАНОВО²

Резюме

Фармакологическое средство “Поллентар” в дозе 50 мг/кг при профилактическом введении на модели глобальной церебральной ишемии в 2 раза повышает выживаемость крыс в сравнении с контрольной группой и восстанавливает мозговой кровоток, т.е. проявляет выраженное церебропротекторное действие.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **церебральная ишемия, цветочная пыльца, янтарная кислота, средство “Поллентар”, церебропротекторная активность.**

RESEARCH OF CEREBROPROTECTIVE ACTION OF DRUG “POLLENTAR”

O.Ya. Mishchenko¹, S.Yu. Shtrygol¹, L.V. Yakovleva¹, A.V. Sadin², T.R. Gryshyna²
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV¹
IVANOVO STATE MEDICAL ACADEMY, IVANOVO²

Summary

The pharmacological drug “Pollentar” in a doze of 50 mg/kg at preventive administration on the model of global cerebral ischemia increases in 2 times rat survival in comparison with control group and restores blood circulation in brain, i.e. shows the expressed cerebroprotective action.

KEY WORDS: **cerebral ischemia, flower pollen, succinic acid, drug “Pollentar”, cerebroprotective activity.**

Отримано 25.06.2003 р.

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

РОЛЬ ГІПОКСІЇ ТА ПРОТОННОГО МЕХАНІЗМУ ПАРІЄТАЛЬНИХ КЛІТИН У ВИНИКНЕННІ СТРЕСОВИХ І ПЕПТИЧНИХ ВИРАЗОК; ЗАХИСНИЙ І ЛІКУВАЛЬНИЙ ЕФЕКТИ ШЛУНКОВОЇ ОКСИГЕНОТЕРАПІЇ

Я.І. Гонський, В.В. Гнатів

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

На основі експериментальних і клінічних досліджень автори виявили профілактичний і лікувальний ефекти від безперервного тривалого внутрішньошлункового введення молекулярного кисню при стресових та пептичних ерозіях і виразках шлунка та дванадцятипалої кишки. Запропоновано гіпотезу щодо ролі гіпоксії в ушкодженні парієтальних клітин внаслідок переміщення протонів з матриксу мітохондрій та накопичення їх у цитоплазмі. При цьому в клітинах відбуваються конкуруючі, H⁺-залежні процеси (синтез АТФ та продукування хлоридної кислоти), на забезпечення яких використовуються протони.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стресові й пептичні виразки, гіпоксія, шлункова оксигенотерапія.

ВСТУП. У виникненні стресових і пептичних виразок та їх резистентності до лікування значна роль належить гіпоксії [3, 4, 7, 17].

Покращання кровообігу гастродуоденальної зони, мікроциркуляції слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки [9], застосування антиоксидантів [16], вирівнювання метаболізму [4] – патогенетично виправдані методи терапії, в основу яких покладено принцип відновлення адекватності доставки кисню до клітин їхній метаболічній потребі. Виражений ефект відмічають автори і від застосування кисню (гіпербаричної оксигенації [15], ентерального його введення [8]) в комплексі лікування виразкової хвороби. Проте слід зауважити, що при цьому оксигенотерапію хворим вони проводять сеансами (гіпербаричну оксигенацію – по 50-60 хв через день [2]; ентеральне введення кисню – фракційним способом, по 800-1200 мл щодня [8]). Однак короточасні сеанси оксигенотерапії забезпечують нетривалий ефект: після призупинення подачі газу парціальний тиск кисню у тканинах знову повертається до попередніх значень і несприятливий вплив гіпоксії відновлюється [5]. Це спонукало нас розробити спосіб ліквідації гіпоксії тканин шлунково-кишкового тракту протягом усього періоду дії негативних чинників та лікування пептичної виразки за допомогою безперервної тривалої шлункової оксигенотерапії [12].

© Я.І. Гонський – д.мед.н., проф., В.В. Гнатів, 2003.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під час експерименту ми досліджували особливості виникнення стресових ерозій та виразок, а у клініці – ефективність лікування пептичних виразок в умовах ліквідації гіпоксії слизової оболонки шлунково-кишкового тракту шляхом введення у шлунок через ендоназальний зонд молекулярного кисню з об'ємною швидкістю 0,1-0,2 мл·хв⁻¹·м².

У тварин (12 щурів) моделювали стресові ураження слизової оболонки шлунка, іммобілізуючи їх протягом 6 год при низькій температурі (+4 °С). Досліджуваній групі тварин (12) за таких же умов фіксації протягом 6 год за допомогою апарата "Інфузомат" катетером вводили у шлунок молекулярний кисень.

Даний спосіб оксигенотерапії застосували при лікуванні виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки (у 22 хворих – консервативно; у 46 – під час операції та в післяопераційний період) [10]. Контрольні групи (20 хворих) склали пацієнти з аналогічною патологією, яким проводили оперативне лікування без використання шлункової оксигенотерапії.

Оцінювали клінічні дані, моторно-евакуаторну функцію шлунка (електрогастрографічно), дані ендоскопічних досліджень, органний кровотік (реографічно – апарат РПГ 2-02) та газовий склад крові (апарат "UNISTAT OXIMETER"). Отримані результати обробляли статистично з використанням критерію Стюдента, порівнюючи їх із даними пацієнтів контрольної групи.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Під час експерименту в тварин контрольної групи виявляли клінічну картину вираженого стресу (зниження активності, частоти дихання та серцевих скорочень, температури тіла), гістологічно підтверджену численними ерозіями та виразками слизової оболонки шлунка. У досліджуваних тварин, у порожнину шлунка яких вводили кисень, спостерігали ось що: щури були більш активними, температура тіла – на $(1,3 \pm 0,3)$ °C вищою; забарвлення шкіри, частота дихання та серцевих скорочень наближались до норми. Гістологічні дослідження виявили цитопротективну дію кисню: відсутність стресових виразок слизової оболонки шлунка та гіпоксичного ураження тканин печінки у досліджуваних тварин порівняно з контрольними.

При тривалому застосуванні безперервної шлункової оксигенотерапії в комплексі консервативного лікування хворих із пептичною виразкою відновлення мікроциркуляції слизової оболонки шлунка (підтверджено реографічно) і загоювання виразки (підтверджено ендоскопічно) відбувались на 5-7 днів раніше, аніж у контрольній групі хворих (20), яким проводили тільки стандартне лікування.

Під час операції у хворих із пенетрувальною виразкою оцінювали ефективність всмоктування кисню з просвіту шлунка. Для цього при проведенні безперервної тривалої шлункової оксигенотерапії хірурги забирали кров із правої шлунково-сальникової вени (в асептичних умовах, анаеробно). Відмічали зміну її забарвлення, яке ставало більш яскраво-червоним порівняно зі змішаною венозною кров'ю; при цьому виявляли достовірне підвищення насиченості й вмісту кисню у венозній крові, що відтікає від шлунка ($p < 0,05$) (табл. 1). Внутрішньошлунковий тиск безпосередньо під час сеансу оксигенотерапії не зростає. Це свідчило про ефективне надходження кисню з порожнини органа у клітини слизової оболонки, подальше проникнення газу в кров і, очевидно, ліквідацію тканинної гіпоксії.

У післяопераційний період відмічали раннє (вже з перших годин) відновлення перистальтичних рухів кишечника, зменшення на $(60,5 \pm 15,0)$ % об'єму застійного вмісту шлунка

($p < 0,01$) через 20 год після завершення операції. Самовільне відходження газів у цих пацієнтів відбувалося на $(32,0 \pm 3,4)$ год раніше, аніж у хворих контрольної групи. Це дозволило на 1,5 доби раніше призначати ентеральне харчування, зменшувати об'єм інфузійно-трансфузійної терапії, швидше активізувати хворих. Побічних ефектів під час проведення шлункової оксигенотерапії не спостерігали в жодного пацієнта.

Згідно з даними функціональної гістології та фізіології [11], більшість ерозій локалізується у ділянці дна і тіла шлунка (в зоні головних залоз). У ділянці малої кривини шлунка відбувається найбільш рання та інтенсивна (з вищою кислотністю) секреція залоз у відповідь на подразники; тут же виникають і найбільш виражені структурні зміни головних та парієтальних клітин, які проявляються розвитком гострих виразок (підтверджених нами під час експерименту).

Первинні ушкодження слизової оболонки шлунка при дії стресу виникають перш за все на рівні парієтальних клітин (відповідальних за синтез хлористоводневої кислоти) [11]. Її продукування та виділення в просвіт травного каналу шлункового соку – процеси, які потребують великої затрати енергії [13].

Аналіз літератури та результати власних досліджень дозволили нам запропонувати таку узагальнену гіпотезу послідовності подій, що призводять до формування стресових та пептичних виразок.

Початковим чинником функціональних і морфологічних порушень клітин слизової шлунка є стрес. Індуковане ним посилення виділення стресових гормонів (адреналіну і глюкокортикоїдів) зумовлює збільшення периферичного судинного тону та порушення мікроциркуляції тканин вісцеральних органів; одночасно адреналін запускає в дію аденілатциклазну систему: утворюється ц-АМФ, який стимулює гліколіз як єдине джерело утворення за цих умов АТФ. Окиснювальне фосфорилування АДФ до АТФ в умовах гіпоксії послаблене і не може задовольнити всі потреби тканин в енергії.

Гліколіз призводить до короткочасного енергозабезпечення. Але швидкий його ріст

Таблиця 1 – Вплив шлункової оксигенотерапії на оксигенацію венозної крові у хворих із пенетрувальними виразками під час операції ($M \pm m$)

Показник	Кров із шлунково-сальникової вени		Змішана венозна кров	
	при шлунковій оксигенотерапії	у хворих контрольної групи	при шлунковій оксигенотерапії	у хворих контрольної групи
Св. O ₂ , %	82,4 ± 1,8*	78,4 ± 1,2	75,6 ± 1,4	75,4 ± 2,1
Св. O ₂ , мл·л ⁻¹	144,4 ± 2,8**	136,6 ± 2,5	128,4 ± 1,9	128,1 ± 2,0

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

зумовлює закислення внутрішнього середовища клітин за рахунок нагромадження лактату і пірувату, які зворотно гальмують сам гліколіз.

Закисленню середовища (зростання концентрації H^+) будуть сприяти ще такі чинники: гіпоксія послаблює тканинне дихання та АТФ-синтетазу мітохондрій, яка за нормальних умов утворює АТФ за рахунок протонного потенціалу або електрохімічного градієнта іонів H^+ [6]. Він складається із 2-х компонентів: осмотичного – різниці концентрацій іонів H^+ по обидва боки внутрішньої мембрани мітохондрій і електричного – різниці електричних зарядів. Синтез молекули АТФ із АДФ і ФН супроводжується проникненням двох протонів із зовнішньої сторони всередину мітохондрії. У нормі утворена АТФ переноситься з матриксу мітохондрії в міжмембранний простір і цитоплазму клітини, де і використовується за призначенням.

Гіпоксія і закислення середовища в клітині гальмують дію АТФ-синтази. Утворена АТФ зазнає гідролітичного розщеплення, а іони H^+ з матриксу направляються на зовнішній бік внутрішньої мембрани мітохондрії для підтримання її мембранного потенціалу (збереження життєздатності). Таким чином, потік протонів із матриксу в міжмембранний простір і цитоплазму клітини – це друга причина закислення протонами середовища клітини.

Сприяє виділенню H^+ в слизовій, зокрема в парієтальних клітинах шлунка, і робота карбоангідрази, яка каталізує реакцію:



У нормі ця реакція є основною в генерації H^+ , що йдуть на вироблення HCl .

Можна припустити, що первинне ураження клітин, які продукують хлористоводневу кислоту, якраз і зумовлене порушенням даних механізмів. Адже парієтальні клітини, крім збереження структурної цілісності, “зобов’язані” виконувати ще і свою специфічну функцію: забезпечувати продукцію і виділення у просвіт травного каналу HCl (яка складається з катіонів водню – тих же протонів та з аніонів хлору). Отже, у цих клітинах відбуваються конкурентні, H^+ -залежні процеси: використання протонів як для синтезу АТФ, так і для продукції HCl . (Концентрація іонів водню в шлунковому соці в десятки і сотні тисяч разів перевищує їхню концентрацію в крові та інших тканинах! [13]).

Мікроорганізми (*Helicobacter pylori*), яким у даний час відводиться важлива роль у розвитку пептичних виразок, стимулюючи секрецію хлористоводневої кислоти [13], очевидно, також пригнічують діяльність H^+ -АТФ-синтази, послаблюючи процеси енергоутворення клітин.

Закислення внутрішньоклітинного середовища слизової шлунка та обмеження синтезу АТФ викликають такі порушення у функціонуванні клітин: при $pH=5,0$ активуються лізосомальні гідролази, які виходять з лізосом; обмаль АТФ пригнічує роботу транспортних АТФ-залежних систем (Na^+ , K^+ -АТФ-ази, K^+ , H^+ -АТФ-ази, аніончутливі АТФ-ази). У результаті іони Na^+ і Ca^{++} , що потрапили в клітини за концентраційними градієнтами, нагромаджуватимуться тут, затримуючи для електронейтральності іони Cl^- . Наслідком цього буде осмотичний шок у клітині: гідрофільні іони, збільшуючи осмотичний тиск, затримують воду, що призводить до цитолізу клітин (руйнування плазматичних мембран).

На рівні слизової оболонки макроскопічно це проявляється у вигляді гострої ерозії [14]. У подальшому визначальна роль в патогенезі пептичної виразки належить невідповідності місцевих чинників захисту слизової факторам агресії [13]. Виникненню пептичної виразки дванадцятипалої кишки сприяє метаплазія сюди шлункового епітелію, на якому колонізуються *Helicobacter pylori*, що спричиняють звизракування (схема 1).

Справедливість цієї гіпотези підтверджується створенням протилежних умов для клітини [12]: при цьому кисень, введений у порожнину шлунка, ефективно всмоктується крізь слизову оболонку та, переходячи у просвіт судин за рахунок градієнта тиску, насичує тканини. Будучи кінцевим акцептором електронів, він сприяє нормалізації окисного фосфорилування, вирівнювання всіх енергозалежних реакцій у клітинах та відновлення їхньої структури (схема 2). Крім того, підвищена концентрація кисню в порожнині шлунково-кишкового тракту чинить негативний вплив на *Helicobacter pylori*, оскільки останній належить до факультативних аеробів та оптимально розвивається при концентрації кисню лише 5 % [1].

ВИСНОВОК. Запропонована гіпотеза стосовно ролі гіпоксії та порушень протонного градієнта у виникненні стресових і пептичних виразок якоюсь мірою пояснює протективний та лікувальний ефекти безперервної тривалої шлункової оксигенотерапії. Разом із тим, застосування даного способу в клінічних умовах викликає необхідність подальшого вивчення впливу молекулярного кисню на функціональний стан шлунково-кишкового тракту (дослідження секреторної функції шлунка і кишок) та його дії на ерадикацію мікроорганізмів *Helicobacter pylori*.

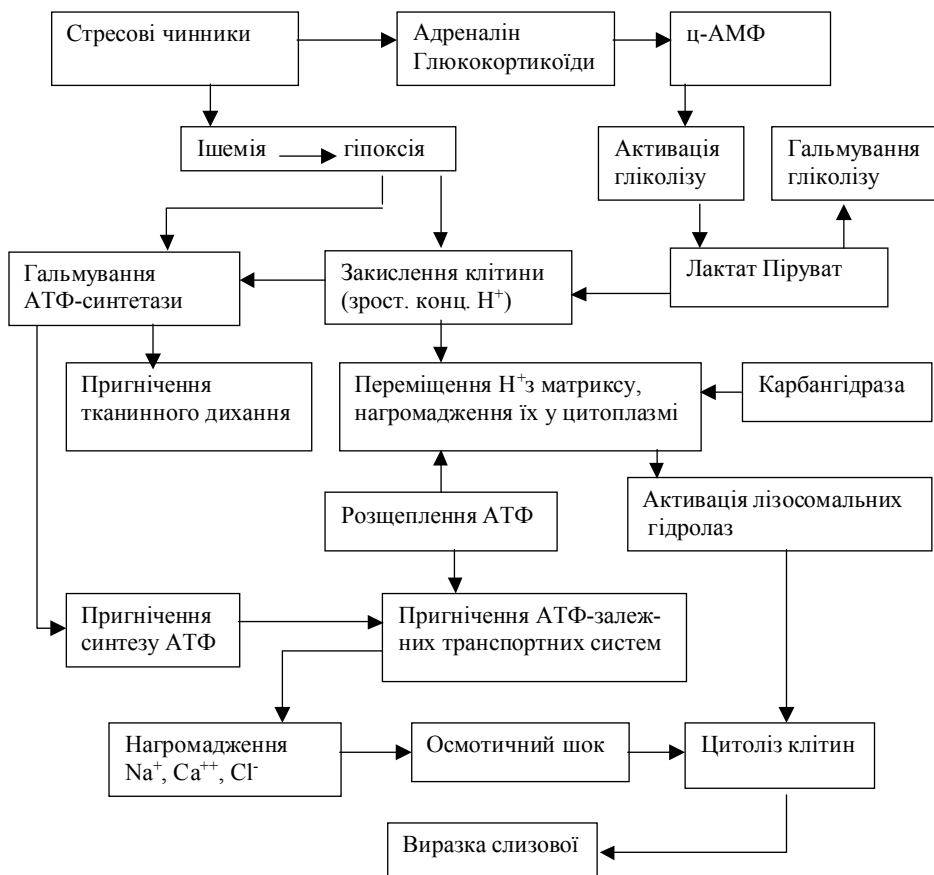


Схема 1. Роль гіпоксії та протонного механізму у формуванні виразки.

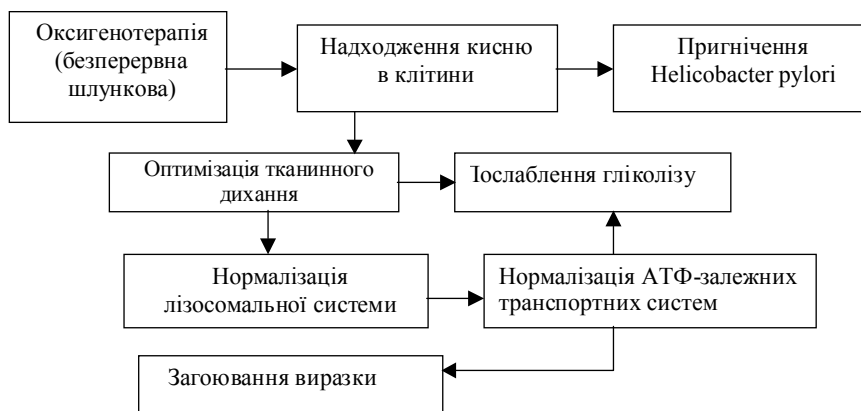


Схема 2. Вплив безперервної тривалої шлункової оксигенотерапії на загоєння виразки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреечкин Ю.А. Действие кислорода на *Campilobacter pylori* // Клініч. хірургія. – 1995. – № 9-10. – С. 12-13.
2. Бородавка И.В. Состояние слизистой оболочки гастродуоденальной зоны у больных язвенной болезнью при воздействии гипербарической оксигенации // Матеріали XIV з'їзду терапевтів України. – К., 1998. – С. 344-346.
3. Гипоксия. Адаптация. Патогенез. Клиника: Руководство для врачей / Под ред. Ю.Л. Шевченко. – ЭлБИ-С.Пб., 2000. – С. 12-23.
4. Гнатів В.В. Критичні порушення кисневого балансу у хворих на ускладнену виразкову хворобу шлунка і дванадцятипалої кишки та загальні принципи їх корекції // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2002. – № 2(д). – С. 65-66.
5. Гнатів В.В. Системне та регіонарне забезпечення і споживання кисню тканинами шлунка при оперативному лікуванні виразкової хвороби // Здобутки клініч. та експерим. мед. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – С. 223-226.
6. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія люди-

ни. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 271-276.

7. Гриневич В.Б., Ткаченко Е.Н., Успенский Ю.П. О классификации эрозивных изменений слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки // Клинич. медицина. – 1996. – № 1. – С. 75-77.

8. Каплан Ф.С. Внутрижелудочная оксигенотерапия при язвенной болезни // Клинич. медицина. – 1970. – № 10. – С. 57-61.

9. Ковальчук Л.А. Регионарный кровоток желудка и двенадцатиперстной кишки в хирургии язвенной болезни: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – К., 1986. – 37 с.

10. Ковальчук Л.Я., Гнатів В.В., Беденюк А.Д. та ін. Безперервна тривала гастроінтестинальна оксигенотерапія в абдомінальній хірургії // Матеріали науково-практ. конф. хірургів Тернопілля. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 99-100.

11. Лазовский Ю.М. Функциональная морфология желудка в норме и при патологии – М.: Изд-во АМН СССР, 1948. – С. 111-126.

12. Пат. 45638 А Україна, МКИ А 61В10/00.

Спосіб внутрішньошлункової оксигенотерапії / Ковальчук Л.Я., Гнатів В.В., Беденюк А.Д., Басистюк І.І., Твердохліб В.В., Гусак О.М., Сиваківський М.А. – Відпр. 17.05.2001; Отр. 15.04.2002, Бюл. № 4. – 3 с.

13. Передрий В.Г. Язвенная болезнь или пептическая язва. – К.: Здоров'я, 1997. – 158 с.

14. Рысс Е.С., Фишзон-Рысс Ю.И. Эрозии желудка, эрозивный гастрит, их формы и подходы к лечению // Клинич. медицина. – 1995. – № 4. – С. 31-34.

15. Тевяшов А.В. Гипербарическая оксигенация в комплексном лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ярославль, 1997. – 21 с.

16. Das D., Banerjee R.K. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration // Molecular & Cellular Biochemistry. – 1993. – **125**, № 2. – P. 115-125.

17. Esedov E.M., Mamaev S.N. Effects of mono- and combined peptic ulcer therapy on lipid peroxidation and antioxidant defense in ulcerous zone // Klinicheskaia Meditsina. – 1998. – **76**, № 1. – P. 28-31.

РОЛЬ ГИПОКСИИ И ПРОТОННОГО МЕХАНИЗМА ПАРИЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ВОЗНИКНОВЕНИИ СТРЕССОВЫХ И ПЕПТИЧЕСКИХ ЯЗВ; ЗАЩИТНЫЙ И ЛЕЧЕБНЫЙ ЭФФЕКТЫ ЖЕЛУДОЧНОЙ ОКСИГЕНОТЕРАПИИ

Я.И. Гонский, В.В. Гнатив

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

На основании экспериментальных и клинических исследований авторы обнаружили профилактический и лечебный эффекты от непрерывного длительного внутрижелудочного введения молекулярного кислорода при стрессовых и пептических эрозиях и язвах желудка и двенадцатиперстной кишки. Предложено гипотезу относительно роли гипоксии в повреждении париетальных клеток вследствие перемещения протонов из матрикса митохондрий и накопления их в цитоплазме. При этом в клетках осуществляются конкурирующие, H⁺-зависимые процессы (синтез АТФ и продуцирование хлористоводородной кислоты), для обеспечения которых используются протоны.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стрессовые и пептические язвы, гипоксия, желудочная оксигенотерапия.

ROLE OF HYPOXIA AND PROTON MECHANISM OF PARIETAL CELLS IN OCCURRENCE OF STRESS AND PEPTIC ULCERS; PROTECTIVE AND THERAPEUTIC ACTION OF GASTRIC OXYGENOTHERAPY

Ya.I. Gonsky, V.V. Gnativ

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKIY

Summary

Authors have found out on the basis of experimental and clinical researches the preventive and medical effect of continuous long intrastomach introduction of molecular oxygen at stress and peptic erosions and gastric and duodenal ulcers. A hypothesis about the role of hypoxia in defeat of parietal cells owing to moving of protons from mitochondrial matrix and their accumulation in cytoplasm has been offered. Thus in cells H-dependent processes are carried out competing: ATF synthesis and production of HCl for which maintenance protons are used.

KEY WORDS: stress and peptic ulcers, hypoxia, gastric oxygenotherapy.

Отримано 15.04.2003 р.

Адреса для листування: Я.І. Гонський, кафедра біохімії, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

МЕТОДИКА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ БУРШТИНОВОЇ КИСЛОТИ В КАПСУЛАХ “ПОЛЛЕНТАР”

М.В. Лелека

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

Розроблено методику кількісного визначення бурштинової кислоти в капсулах “Поллентар”, до складу яких входять обніжжя бджолине та бурштинова кислота. Вона характеризується високою точністю, простотою, експресністю. Відносна похибка визначення не перевищує 2 %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бурштинова кислота, обніжжя бджолине, кількісне визначення.

ВСТУП. В останні роки все більшу увагу провізорів і фармакологів привертає бурштинова кислота, яка володіє широким спектром фармакологічної активності. Вона чинить антигіпоксичний, антиоксидний, нейротропний та актопротекторний вплив [4]. Останній визначається здатністю препарату запобігати зниженню працездатності в шкідливих умовах проживання та праці. Вважається, що актопротектори, на відміну від психомоторних стимуляторів (фенаміну та ін.), не проявляють виснажливої дії на енергетичні ресурси організму. Дія цих препаратів реалізується за рахунок підвищення ефективності використання енергетичних субстратів та активації відновлювальних процесів [7, 14]. Зважаючи на таку фармакологічну активність бурштинової кислоти, її вводять до складу біологічно активних добавок.

Нами розроблені склад та технологія лікарської форми на основі бурштинової кислоти та обніжжя бджолиного у капсулах як адаптогенний, загальнозміцнювальний засіб [4, 9].

Показники бурштинової кислоти регламентуються ТУУ 13970836.002-99. ДФ СРСР десятого видання пропонує метод кислотно-основного титрування (титрант – 0,1 н розчин гідроксиду натрію, індикатор – фенолфталеїн) для її кількісного визначення. Крім цього, використовують метод осадження даної кислоти у вигляді нерозчинної барієвої солі. Описано способи кількісного визначення бурштинової кислоти в присутності ацетатної, малатної, виноградної та цитратної кислот [1, 6, 8]. В окремих випадках точність цих методів недостатня, а в деяких вагомим недоліком є

© М.В. Лелека, 2003.

тривалість аналізу чи наявність забарвлених і каламутних розчинів [11, 15, 16].

Вимоги, що зростають до якості лікарських засобів, зумовили необхідність розробки специфічних, чутливих, простих та легких у виконанні методів кількісного визначення [10, 12, 13]. У цьому відношенні важливого значення набув метод потенціометричного титрування, який характеризується вищою чутливістю та об'єктивністю встановлення кінця титрування [2].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі застосовували потенціометричний метод з використанням іономіра И-130. Електродна система: індикаторний електрод – скляний, електрод порівняння – насичений хлоросрібний.

Розчин натрію гідроксиду з концентрацією 0,1 моль/л готували і стандартизували відповідно до вимог ДФУ.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При потенціометричному титруванні бурштинової кислоти гідроксидом натрію спостерігається чіткий стрибок титрування на кривій титрування (рис. 1, крива 1).

Константи кислотності бурштинової кислоти незначно відрізняються, тому спостерігається один стрибок титрування за двома стадіями одночасно. Дослідження кислотно-основних властивостей обніжжя бджолиного, проведені в широких концентраційних межах, показали, що при його титруванні лугом на кривій титрування немає стрибка. Як доказ цього, на рисунку 1 наведено криву потенціометричного титрування 0,8 % водного розчину

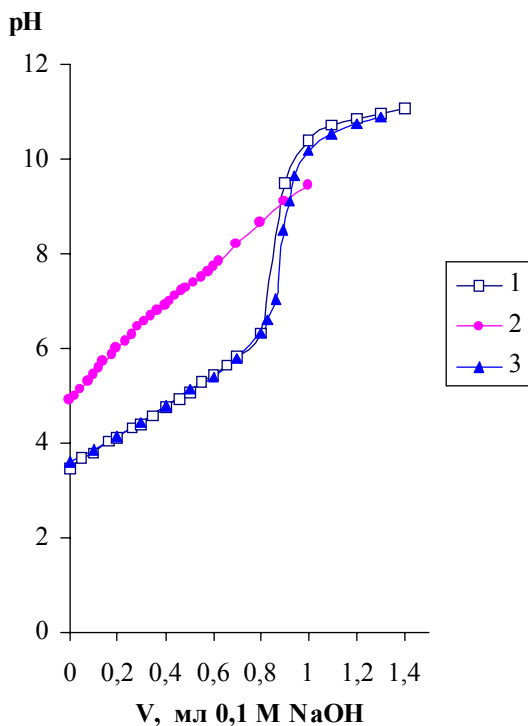


Рис. 1. Криві потенціометричного титрування бурштинової кислоти (1), обніжжя бджолиного (2) та їх суміші (3).

обніжжя 0,1 М розчином гідроксиду натрію (крива 2). Очевидно, кислотні властивості складників обніжжя слабкі [5], а кислотні його компоненти малоіонізовані в розчинах, внаслідок чого початкова точка кривої титрування зсунута по шкалі рН до вищих значень і стрибок рН зменшений настільки, що зовсім не помітний. Як бачимо на рисунку 1, крива титрування бурштинової кислоти збігається з кривою титрування суміші (крива 1 і крива 3). Це вказує на те, що присутність обніжжя бджолиного не впливає на титрування бурштинової кислоти, і дозволило запропонувати потенціометричний метод кількісного визначення бурштинової кислоти в комбінованих лікарських формах на основі обніжжя бджолиного.

Методика кількісного визначення бурштинової кислоти в субстанції. Близько 0,05 г (точна наважка) висушеної до постійної маси бурштинової кислоти розчиняють у свіжопрокип'яченій дистильованій воді в мірній колбі місткістю 250 мл, доводять об'єм розчину водою дистильованою до мітки. У склянку місткістю 50 мл вносять 25,0 мл одержаного розчину, занурюють електроди, вмикають магнітну мішалку і титрують 0,1 М розчином NaOH.

Вміст бурштинової кислоти ($C_4H_6O_4$) у відсотках (W) розраховують за формулою:

$$W = \frac{V \cdot 0,0059 \cdot Kn \cdot 10 \cdot 100\%}{a}$$

де V – об'єм 0,1 М розчину NaOH, витрачений на титрування, мл;

a – наважка бурштинової кислоти, г;

Kn – коефіцієнт перерахунку концентрації розчину титранту NaOH до 0,1 М;

0,0059 – кількість грамів бурштинової кислоти, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину NaOH.

Результати визначення вмісту кислоти бурштинової в субстанції представлено у таблиці 1. Статистичну їх обробку здійснювали, використовуючи метод статистичного аналізу на основі критерію t-Стюдента [3].

Методика кількісного визначення бурштинової кислоти в капсулах з обніжжям бджолиним. Близько 0,17 г (точна наважка) вмісту капсули розчиняють у свіжопрокип'яченій дистильованій воді в мірній колбі місткістю 250 мл, доводять об'єм розчину водою дистильованою до мітки. В склянку місткістю 50 мл вносять 25,0 мл одержаного розчину, занурюють електроди, вмикають магнітну мішалку і титрують 0,1 М розчином гідроксиду натрію. Вміст бурштинової кислоти ($C_4H_6O_4$) в грамах на одну капсулу розраховують за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0,0059 \cdot Kn \cdot 10 \cdot m_c}{m_H}$$

де m_c – середня маса вмісту капсули, г;

m_H – маса наважки, г.

Вміст бурштинової кислоти в перерахунку на середню масу вмісту капсули повинен бути в межах 0,0475-0,0525 г.

Результати визначення вмісту бурштинової кислоти у капсулах "Поллентар" наведено у таблиці 2.

Правильність методики визначення вмісту бурштинової кислоти в присутності обніжжя бджолиного було перевірено методом "введено-знайдено" завдяки приготуванню модельних сумішей. Суміш А відповідала складу капсул "Поллентар". Суміш Б готували з метою довести, що збільшення вмісту обніжжя бджолиного в 5 разів відносно рівня бурштинової кислоти не впливає на результати кількісного визначення цієї кислоти.

Результати даного експерименту наведено в таблиці 3.

Запропонована методика визначення вмісту бурштинової кислоти у субстанції та лікарському засобі характеризується невеликою відносною похибкою (менше 2 %), експресністю, простотою апаратного забезпечення. Це дозволяє використати її в умовах контрольно-аналітичних лабораторій інспекцій контролю за якістю ліків, заводів і фабрик, а отже, дає

Таблиця 1 – Результати кількісного визначення бурштинової кислоти в субстанції (n=5, p=0,95)

Введено, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
0,0500	0,0503	100,50	$\bar{x} = 99,74 \%$ $S = 0,9530$ $S_r = 0,4262$ $\Delta \bar{x} = 1,18$ $\varepsilon = 1,19 \%$
0,0497	0,0495	99,01	
0,0504	0,0505	101,02	
0,0494	0,0495	98,95	
0,0494	0,0496	99,23	

Таблиця 2 – Визначення вмісту бурштинової кислоти у капсулах "Поллентар" (n=5, p=0,95)

Наважка, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г		
0,1734	0,0500		$\bar{x} = 0,0498$ $S = 6,48 \cdot 10^{-4}$ $S_r = 1,3 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x} = 0,0008$ $\varepsilon = 1,61 \%$
0,1717	0,0495		
0,1751	0,0505		
0,1720	0,0496		
0,1717	0,0495		

Таблиця 3 – Результати перевірки методики кількісного визначення бурштинової кислоти (в присутності обніжжя бджолиного) методом "введено-знайдено"

Взято обніжжя бджолиного	Введено бурштинової кислоти, г	Знайдено бурштинової кислоти, г	e, ±%
Суміш А			
0,1205	0,0497	0,0495	0,40
0,1203	0,0495	0,0500	1,01
0,1207	0,0501	0,0506	0,99
0,1209	0,0503	0,0509	1,19
0,1204	0,0504	0,0500	0,79
Суміш Б			
0,2510	0,0503	0,0509	1,19
0,2505	0,0497	0,0492	1,00
0,2507	0,0495	0,0500	1,01
0,2507	0,0493	0,0499	1,22
0,2505	0,0499	0,0503	0,80

можливість покласти її в основу аналітичної нормативної документації на лікарські засоби, що містять бурштинову кислоту й обніжжя бджолине.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено методику потенціометричного визначення бурштинової

кислоти в субстанції та капсулах з обніжжям бджолиним. Вона покладена в основу АНД на капсули "Поллентар".

2. Дана методика характеризується простотою виконання, експресністю, точністю і невеликою відносною похибкою, яка не перевищує 2 %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бауер М.А. Анализ органических соединений. – М.: Знание, 1953. – С. 12- 15.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експериментальний фармакопейний центр". – 1 вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Кузьма Ю., Ломницька Я., Чабан Н. Аналітична хімія: Навчальний посібник з теоретичних основ аналітичної хімії. – Львів: Вид. центр Львівсь-

кого національного університету імені Івана Франка, 2001. – 294 с.

4. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В., Лелека М.В. Експериментальне вивчення впливу нового адаптивного засобу "Поллентар" на витривалість щурів // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 4. – С. 48-51.

5. Обніжжя бджолине (пилкок квітковий) і його суміші // ДСТУ 3127-95. – К., 1995. – 52 с.

6. Савицкий И.В. Биологическая химия. – К.: Вища школа, 1982. – 411 с.
7. Смирнов А.В. Антигипоксанты и актопротекторы: итоги и перспективы. – С.Пб., 1994. – Вып. 3. – 164 с.
8. Фрайдли Г.Н. Алифатические дикарбоновые кислоты. – М.: Химия, 1978. – 263 с.
9. Ярних Т.Г., Данькевич О.С., Лелека М.В., Сорокіна Е.В. Дослідження фармако-технологічних показників при розробці капсул з янтарною кислотою та обніжжям бджолиним // Фармац. журн. – 2002. – № 5. – С. 81-85.
10. British Pharmacopoeia. – London, 1998. – 2. – Appendix XIII A 203.
11. Davis S.S. Biopharmaceutical aspects of drug formulation // Acta Pharm. Suec. – 1986. – 23, № 5. – P. 267.
12. Manufacturing of Gelatin Capsules. Capsule Technology International Ltd. – Canada, Montreal, 1992. – 17 p.
13. Martindale. The Extra Pharmacopoeia, 30-th Edition. – London, 1993. – 976 p.
14. Noda K., Taniguchi H., Kitasaka R. Effect of amino acid imbalance of protein synthesis of skeletal muscle and liver in rats // Nutr. Repts. Int.-1975. – 11, № 2. – P. 129.
15. The International Pharmacopoeia, Third ed. – World Health Organization. – Geneva, 1995. – 2532 p.
16. The United States Pharmacopoeia 23-d Ed. – US Pharmacopoeial Convention, Inc. – 1995. – 2391 p.

МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ В КАПСУЛАХ "ПОЛЛЕНТАР"

М.В. Лелека

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

Резюме

Разработана методика количественного определения янтарной кислоты в капсулах "Поллентар", в состав которых входят обножка пчелиная и янтарная кислота. Она характеризуется высокой точностью, простотой, экспресностью. Относительная ошибка определения не превышает 2 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **янтарная кислота, обножка пчелиная, количественное определение.**

METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF AMBER ACID IN CAPSULES "POLLENTAR"

M.V. Leleka

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY OF UKRAINE, KHARKIV

Summary

Methods of the quantitative determination of amber acid in capsules "Pollentar", including amber acid and bee pollen was worked out. Methods is characterized by high accuracy, simplicity and expressivity. Relative mistake of finding is not higher than 2%.

KEY WORDS: **amber acid, bee pollen, quantitative determination.**

Отримано 12.06.2003 р.

Адреса для листування: М.В. Лелека, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ КОРЕНЕВИЩ ТА КОРЕНІВ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО *AGROPYRON REPENS* (L.).

С.М. Марчишин

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

З кореневищ та коренів пирію повзучого, зібраних навесні, із застосуванням 70° етилового спирту та розчину Фолча одержано дві фракції сполук. З використанням методу ВЕРХ аналізували хроматографічний профіль спиртово-водного екстракту, встановили наявність не менше 15 піків речовин. У складі комплексу речовин ліпофільного походження із застосуванням методу ТШХ встановлено перевагу тригліцеридів порівняно з ди- та моногліцеридами. Наведено якісну та кількісну характеристики жирнокислотного складу три-, ди-, моногліцеридів та фосфоліпідів з урахуванням жирних кислот, які знаходяться у вільному стані.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пирій, кореневища, хроматографічне дослідження, ідентифікація.

ВСТУП. Результати пошуку в Інтернеті свідчать про відродження інтересу фітотерапевтів світу до рослин родини злакових (Gramineae, Poaceae), особливо до пирію повзучого *Agropyron repens* (L.). У Європейській Фармакопеї [4] вміщена стаття "Couch Grass Rhizome", у якій кореневище пирію подається як лікарська рослинна сировина, але розділу "Кількісне визначення біологічно активних речовин" [4] немає. Хімічний склад рослини, яка широко застосовується у народній медицині, практично не вивчений, тому в колі наших інтересів є дослідження як хімічного складу, так і біологічних властивостей різних фракцій сполук пирію повзучого. У наведеному повідомленні представлені результати дослідження хімічного складу його кореневищ та коренів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Одержано екстракт пирію з використанням як екстрагентів 70° етилового спирту та розчину Фолча. Для цього рослинну сировину подрібнювали, кількісно екстрагували, випаровували під розрідженням у струмі інертного газу до визначеного об'єму.

Хроматографічний профіль спиртового екстракту отримували методом ВЕРХ на приладі "Міліхром-4"УФ. Умови хроматографії підібрано експериментально [1, 3]. Колонка стальна розміром 120x2,0 мм. Сорбент – нуклеосил C₁₈, 7 мкм. Рухома фаза 1(РФ1) – 0,005 % розчин © С.М. Марчишин – к.фарм.н., 2003.

трифтороцтової кислоти. Рухома фаза 2 (РФ2) – ацетонітрил.

Склад рухомої фази сходитно програмували.

Таблиця 1 – Склад рухомої фази

Об'єм РФ, мкл	РФ1, %	РФ2, %	
0	450	100	0
450	650	95	5
650	850	90	10
850	1050	80	20
1050	1400	70	30
1400	1800	60	40
1800	2000	50	50
2000	2200	40	60
2200	2400	30	70

Швидкість рухомої фази – 100 мкл/хв. Температура колонки – 25 °С. Довжина хвилі детектування – 220 нм.

Якісний склад три-, ди-, моногліцеридів, вільних жирних кислот, фосфоліпідів, стеринів та ненасичених вуглеводнів оцінювали, використовуючи метод тонкошарової хроматографії на пластинці з шаром силікагелю G у системі розчинників гексан – диетиловий ефір – оцтова кислота – ізобутилацетат (70:8:2:20). Хроматографію здійснювали висхідним способом. Аналіз хроматограми проводили в УФ-світлі при довжині хвилі 254 та 366 нм, а потім – після витримання у камері з парами йоду протягом 2 годин.

Одержання метилових ефірів жирних кислот проводили за методикою, розробленою

А.А. Лур'є, з використанням суміші диетилового ефіру, метанолу та хлористого ацетилу у співвідношенні 5:50:1. Циклогексановий витяг екстракту кількісно хроматографували на газовому хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором. Колонка капілярна кварцова розміром 25 м×0,25 мм, HP-225, товщина шару – 0,25 мкм.

Температуру колонки програмували: 170 °С (2 хвилини). Приріст температури – зі швидкістю 20 °С/хв до температури 220 °С (18 хв). Температура випаровувача та детектора – 230 °С. Швидкість руху газу-носія (водню) – 0,8 мл/хв. Ділення потоку – 1:60.

Вміст жирних кислот у зразку, що досліджувався, розраховували методом “внутрішньої нормалізації”, поправкові коефіцієнти брали за “одиницю”.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Хроматографічний профіль спиртово-водного екстракту відображено на рисунку 1. Результати хроматографування свідчать про наявність не менше 15 піків окремих домінуючих компонентів в екстракті кореневищ пирію повзучого. Рисунок 2 – схема тонкошарової хроматограми ліпофільної фракції кореневищ пирію. Хроматографічний аналіз екстракту проведено порівняно зі стандартними речовинами-свідками. Результати аналізу (рис. 2) свідчать, що в досліджу-

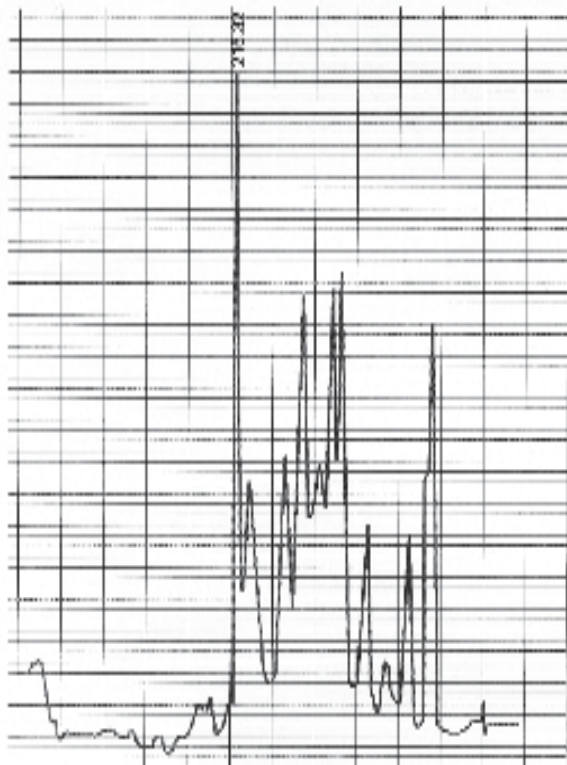


Рис. 1. Хроматографічний профіль спиртового екстракту кореневищ та коренів пирію повзучого (ВЕРХ).

ваному екстракті переважають тригліцериди, а також припускаємо наявність дигліцеридів. Крім того, на хроматограмі видно досить інтенсивну пляму над лінією старту, що свідчить про наявність вільних жирних кислот, фосфоліпідів, які у цій системі розчинників залишаються плямою на старті. Інтенсивна пляма, розташована на схемі хроматограми вище основної плями тригліцеридів, – речовина не ідентифікована. Сполука, пляма якої має жовту флуоресценцію в УФ-світлі, R_f якої дорівнює 0,95, попередньо віднесена до речовин ненасиченої вуглеводневої природи.

На рисунку 3 відображено хроматограму метилових ефірів жирних кислот ліпофільного екстракту кореневищ пирію повзучого. Метод прямого метилювання ліпофільного екстракту дозволяє якісно та кількісно оцінити склад жирних кислот, які входять до структури три-, ди-, моногліцеридів та фосфоліпідів з урахуванням жирних кислот, які знаходяться у вільному стані. Крім хроматограми, газовий

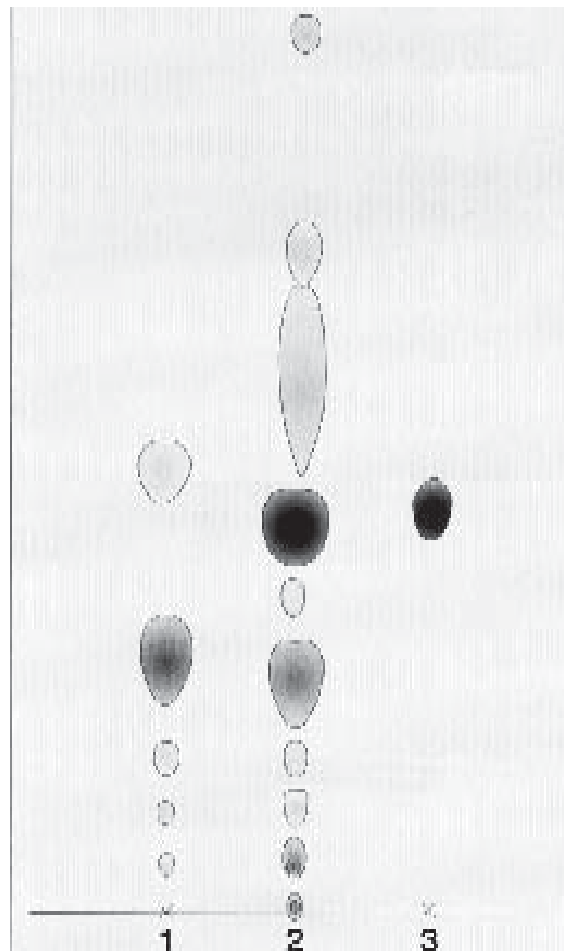


Рис. 2. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільної фракції кореневищ пирію повзучого:

1 – стандартний зразок сполук – свідків ди- та моногліцеридів ЖК; 2 – ліпофільна фракція сполук; 3 – тригліцериди ЖК.

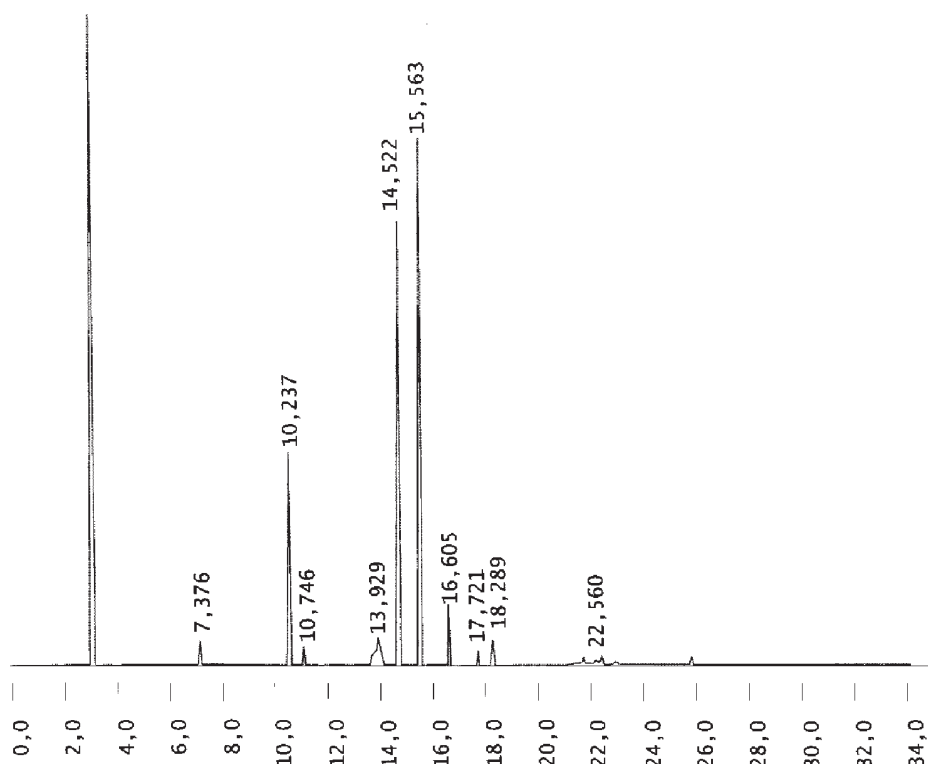


Рис. 3. Хроматограма метилових ефірів жирних кислот ліпофільного екстракту кореневищ пірію повзучого, доповнена інформацією щодо ідентифікації жирних кислот та їх кількісного співвідношення.

прилад автоматично дає інформацію про умови утримання, характер виходу, кількісний та якісний жирнокислотний склад метильованого екстракту (рис. 3, табл. 2). Одержані результати свідчать про значну перевагу вмісту ненасичених жирних кислот порівняно з насиченими. Майже 90 відсотків суми жирних кислот складають такі домінуючі есенціальні кислоти, як олеїнова та лінолева. Наявність поліненасичених жирних кислот (вітаміну F) вказує на перспективність вивчення фармакологічних властивостей ліпофільної фракції сполук пірію.

ВИСНОВКИ. 1. При застосуванні методу ВЕРХ встановлена наявність не менше 15 сполук у складі спиртово-водного екстракту кореневищ та коренів пірію повзучого.

Таблиця 2 – Інформація щодо ідентифікації жирних кислот та їх кількісного співвідношення

№ п/п	Порядковий номер піка	Час виходу	Площа	Висота	Концентрація жирних кислот	Назва
1	1	7,376	2503	963	0,246	лауринова
2	4	10,237	72256	17268	6,8553	пальметинова
3	6	10,746	1964	605	0,1863	пальметолеїнова
4	10	13,929	10803	1351	1,0249	стеаринова
5	11	14,522	449287	41390	42,6269	олеїнова
6	12	15,563	485521	48012	46,0458	лінолева
7	13	16,605	16336	4750	1,5499	ліноленова
8	14	17,721	3306	1051	0,3136	арахінова
9	15	18,289	5653	1771	0,5336	гандолева
10	20	22,56	1604	254	0,1522	неідентифікована
Всього			1049120	117362	99,5373	

2. Виявлено, що тригліцериди жирних кислот переважають над ди- та моногліцеридами у складі ліпофільної фракції кореневищ пірію повзучого.

3. Визначено якісний та кількісний вміст жирних кислот, які входять до складу три-, ди-, моногліцеридів, фосфоліпідів, а також знаходяться у вільному стані.

4. Встановлено, що у складі ліпофільної фракції вміст ненасичених жирних кислот переважає над насиченими.

5. Результати досліджень, беручи до уваги досвід народної медицини та гомеопатії, свідчать про доцільність вивчення з метою використання використання пірію повзучого як джерела біологічно активних сполук та створення на їх основі нових лікарських засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кейтс М. Техника липидологии, выделение, анализ и идентификация липидов: Пер. с англ. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
2. Современная фитотерапия / Под ред. В.Петкова. – София: Медицина и физкультура, 1988. – С. 215-216.
3. Хроматография. Практическое приложение метода / Под ред. Э. Хефтмана. – М.: Мир, 1986. – Часть 1. – 336 с.
4. European Pharmacopoeia 4. – Strasburg. – 2002. – P. 983-984.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КОРНЕВИЩ И КОРНЕЙ ПЫРЕЯ ПОЛЗУЧЕГО *AGROPYRON REPENS* (L.)

С.М. Марчишин

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Из корневищ и корней пырея ползучего, собранных ранней весной, с применением 70° этилового спирта и раствора Фолча, получены две фракции веществ. С использованием метода ВЭЖХ исследован хроматографический профиль спиртово-водного экстракта, установлено наличие не менее 15 пиков веществ. В составе комплекса веществ липофильной природы с использованием метода ТСХ обнаружено преобладание триглицеридов жирных кислот по сравнению с ди- и моноглицеридами.

Охарактеризован качественный и количественный жирнокислотный состав три-, ди-, моноглицеридов и фосфолипидов с учетом жирных кислот, находящихся в свободном состоянии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пырей, корневища, хроматографическое исследование, идентификация.

RESEARCH OF CHEMICAL COMPOUND OF THE COUCH-GRASS *AGROPYRON REPENS* (L.) RHIZOMES AND ROOTS

S.M. Marchyshyn

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.Ya. HORBACHEVSKY

Summary

Two fractions of substances are received from the couch-grass rhizomes and roots, gathered in the early spring, using 70° ethyl alcohol and Folch solution. The chromatographic profile of the alcohol-water extract is investigated using highly effective liquid chromatography method. Presence of not less than 15 peaks of substances is determined. In the composition of the lipophil nature substances the prevalence of triglycerides compare to diglycerides and monoglycerides is revealed, using thin-layer chromatography method. The qualitative and quantitative composition of fatty acids of triglycerides, diglycerides, monoglycerides and phospholipides is characterized, taking into account fatty acids in the free state.

KEY WORDS: couch-grass, rhizomes, chromatographic investigation, identification.

Отримано 17.03.2003 р.

Адреса для листування: С.М. Марчишин, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ВПЛИВ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО АЕРОЗОЛЮ КАМ'ЯНОЇ СОЛІ НА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СТАН АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ОБСТРУКТИВНИЙ БРОНХІТ

Д.В. Решетар, М.Л. Габор, О.І. Лемко

НАУКОВО-ПРАКТИЧНЕ ОБ'ЄДНАННЯ "РЕАБІЛІТАЦІЯ" МОЗ УКРАЇНИ, УЖГОРОД

У роботі представлено результати біохімічних досліджень стану процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активності основного ферменту антиоксидної системи – супероксиддисмутази (СОД) у хворих на хронічний обструктивний бронхіт (ХОБ). Виявлено активацію процесів ПОЛ на тлі зниження активності СОД. Зменшення останньої пов'язане з важкістю перебігу захворювання і ступенем порушення бронхіальної прохідності. Лікування із застосуванням високодисперсного аерозолю кам'яної солі (мікрокліматотерапія) призводить до стабілізації процесів у системі "ПОЛ-антиоксидний захист (АОЗ)".

КЛЮЧОВІ СЛОВА: процеси ПОЛ, активність СОД, мікрокліматотерапія, хронічний обструктивний бронхіт.

ВСТУП. На сьогодні ураження органів дихання займають одне із провідних місць серед інших захворювань. Епідеміологічні дослідження останніх років свідчать про те, що 4-10 % населення планети страждають від хронічних обструктивних захворювань легень (ХОЗЛ) [6, 11, 12]. Важливою складовою адаптаційних реакцій організму при захворюваннях є ПОЛ, яке бере участь у процесах регуляції ліпідного складу біологічних мембран і, внаслідок цього, активності цілого ряду ферментів, що регулюють процеси енергозабезпечення клітин, транспорт катіонів, синтез нуклеїнових кислот, підтримання чутливості клітин до нейрорефлекторних та гуморальних регуляторних впливів тощо [2, 7]. Основною ланкою вільнорадикальних перекисних реакцій при розвитку патологічних станів є утворення активних форм кисню, які взаємодіють перш за все з ліпідами, утворюючи їх активні радикали та перекиси [3, 4]. Надмірна активація ПОЛ під впливом екзо- та ендогенних факторів призводить до пошкодження структурних компонентів біологічних мембран, ферментних систем клітин [1, 5, 9]. Основними механізмами пошкоджувальної дії оксидантів при ХОБ є: збільшення проникності епітелію, пошкодження клітинних елементів, зниження продукції антиоксидантів [10, 13]. Порушення рівноваги в системі "ПОЛ-АОЗ" має суттєве значення в патогенезі ХОЗЛ.

© Д.В. Решетар, М.Л. Габор, О.І. Лемко, 2003.

Метою дослідження було вивчити особливості впливу мікрокліматотерапії на процеси ПОЛ і активність СОД у хворих на ХОБ залежно від важкості перебігу захворювання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено лабораторні та функціональні обстеження 53 хворих на ХОБ віком від 18 до 63 років, які проходили стаціонарне лікування в НПО "Реабілітація". Функцію зовнішнього дихання (ФЗД) вивчали на мікропроцесорній системі "Пульмо-вент-2" (Україна). Оцінювання важкості перебігу захворювання проводили на основі даних клініки і величини об'єму форсованого видиху за першу секунду ($ОФV_1$), який є інтегральним показником прохідності бронхів. Залежно від важкості перебігу ХОБ виділено чотири групи пацієнтів: 1-ша група – легкий перебіг хвороби ($ОФV_1 > 90$ % від належного) з наявністю дистальної обструкції, 0 стадія розвитку ХОЗЛ, 2-га група – легкий перебіг з помірними порушеннями ФЗД ($ОФV_1 - 70-90$ %), I стадія розвитку ХОЗЛ, 3-тя група – середньо-важкий перебіг ($ОФV_1 - 50-70$ %), II стадія розвитку ХОЗЛ, 4-та група – важкий перебіг ($ОФV_1 - до 50$ %), III стадія розвитку ХОЗЛ. Головним компонентом лікування хворих в умовах НПО "Реабілітація" було використання високодисперсних аерозольних середовищ кам'яної солі. Хворим призначали традиційний курс мікрокліматотерапії, який включав 20-22 сеанси

перебування в умовах штучного високодисперсного аерозолу кам'яної солі протягом 1 год. При потребі лікування коректували необхідною підтримувальною бронхолітичною та протизапальною терапією.

Для оцінки ПОЛ проводили визначення вмісту дієнових кон'югатів (ДК), гідроперексидів (ГП), кетодієнів (КД) та малонового діальдегіду (МДА) в крові. Стан АОЗ оцінювали за активністю СОД в еритроцитах крові. Визначення вмісту продуктів ПОЛ і активності СОД у крові проводили за методикою [8]. Крім цього, обстежили 22 практично здорові особи, які склали контрольну групу. Отримані результати обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених досліджень щодо вивчення процесів ПОЛ та активності СОД у крові хворих на ХОБ при госпіталізації в стаціонар дали змогу виявити суттєві порушення рівноваги в системі "ПОЛ-АОЗ". Перш за все привертають до себе увагу надмірне накопичення продуктів ПОЛ і зниження антиоксидної активності СОД. Так, у хворих на ХОБ 1-ї групи при прийнятті на лікування середньостатистичні значення рівнів ДК, ГП, КД та МДА в сироватці крові були суттєво вищими, ніж у здорових, в 1,8, 1,9, 2,0 і 1,3 раза відповідно (табл. 1) та найвищими порівняно з такими ж показниками у пацієнтів інших груп. Вміст СОД у крові знаходився в межах норми, що свідчить про компенсаторно-приспосувальну реакцію до захворювання за рахунок фізіологічних резервів організму.

У хворих 2-ї групи відмічено пригнічення антиоксидної активності СОД при одночасному підвищенні базального вмісту ДК, ГП, КД. Слід відзначити, що інтенсивність накопичення продуктів ПОЛ дещо нижча, ніж у пацієнтів попередньої групи, а рівень МДА знаходився в межах значень норми (табл. 1). Активність СОД в еритроцитах була низькою, що на 36 % ($p < 0,05$) менше показників норми і на 31 % ($p < 0,05$) – в осіб 1-ї групи.

У хворих на ХОБ середньої важкості (3-тя група) рівні ДК, ГП і КД (за значеннями середніх показників у групі) істотно вищі, порівняно з нормою, в 1,8, 1,4 і 1,5 раза, відповідно але активність цього процесу дещо нижча, ніж у пацієнтів попередньої групи. Вміст МДА знаходився в межах значень практично здорових людей. Активність СОД знижувалась як відносно норми, так і порівняно з показниками інших груп (табл. 1). Отримані результати свідчать про прямий взаємозв'язок між АОЗ і ОФВ₁ та зворотний – з процесами ПОЛ. Так,

наростання бронхіальної обструкції у хворих даної групи супроводжувалося підвищенням інтенсивності накопичення продуктів ПОЛ і зниженням активності СОД.

Із наведених у таблиці даних видно, що у хворих з важким перебігом ХОБ (4-та група) відмічено аналогічні зміни в системі "ПОЛ-АОЗ", причому в деяких випадках більш виражені, ніж у попередніх групах. Базальний вміст ДК (в 1,6 раза), ГП (в 1,5 раза) і КД (в 1,9 раза) вірогідно вищий, ніж у донорів, і знаходився в межах значень показників попередніх груп. Водночас встановлено більш виразне пригнічення активності СОД, що ще раз підтверджує прямий зв'язок між рівнем СОД і ОФВ₁.

Після курсу мікрокліматотерапії відмічено певні зміни в системі "ПОЛ-АОЗ", вираження яких залежало перш за все від важкості захворювання. У хворих на ХОБ 1-ї групи (0 стадія розвитку ХОЗЛ) вірогідно знижувався вміст ДК, ГП і КД на 59,9, 41,0 і 68,5 %, відповідно, але нормалізувався тільки рівень КД. Концентрація МДА в сироватці крові пацієнтів даної групи не змінювалась і залишалась у межах значень до лікування. Активність СОД була нижчою від норми на 23,7 %, що на 16,8 % ($p \leq 0,1$) менше такого ж показника до лікування (табл. 1). Зазначені зміни, на нашу думку, свідчать про напружену роботу в системі "ПОЛ-АОЗ" і недостатній контроль зі сторони антиоксидної системи та підтверджують патогенетичну роль цих порушень у розвитку ХОЗЛ. Такий стан може несприятливо впливати на перебіг захворювання і бути одним із чинників частих рецидивів.

У хворих 2-ї групи проведений курс лікування сприяв усуненню дисбалансу в системі "ПОЛ-АОЗ" за рахунок певного зниження рівня продуктів ДК, ГП, КД у крові на 16,8 ($p \leq 0,1$), 57,5 ($p < 0,05$) і 15,76 % ($p \leq 0,1$) відповідно та нормалізації активності СОД ($p_1 < 0,05$) (табл. 1). Відмічені зміни можна пояснити тим, що застосований лікувальний комплекс сприяє дренажу бронхів, чинить протизапальний вплив, у результаті чого покращується легенева вентиляція, зменшується альвеолярна гіпоксія, підвищується оксигенація крові.

У хворих із середньо-важким перебігом ХОБ застосована мікрокліматотерапія стабілізувала процеси ПОЛ з повною нормалізацією всіх аналізованих його показників, однак активність СОД залишалась низькою (в 1,3 раза меншою від норми) (табл. 1).

При важкому перебізі захворювання до кінця лікування дещо знизились показники ДК (на 16,9 %, $p_1 \leq 0,1$) і ГП (на 8,5 %, $p < 0,3$), але нормалізувався тільки рівень КД ($p < 0,001$). Одночасно відмічалось підвищення активності

Таблиця 1– Показники ПОЛ і активність СОД у крові хворих на ХОБ залежно від ОФВ₁ при госпіталізації в стаціонар та в кінці лікування (M±m)

Показники	Практично здорові люди, n=22	Групи обстежених			
		1 група, n=8	2 група, n=13	3 група, n=23	4 група, n=8
ДК, відн. од.	2,69±0,14	<u>4,67±0,48*</u> 2,92±0,48	<u>4,31±0,48*</u> 3,69±0,32*	<u>3,81±0,31*</u> 2,86±0,35**	<u>4,07±0,42*</u> 3,48±0,43*
ГП, відн. од.	1,270±0,008	<u>2,47±0,21*</u> 1,75±0,25* **	<u>2,41±0,31*</u> 1,53±0,17**	<u>1,72±0,20*</u> 1,26±0,15**	<u>1,88±0,28*</u> 1,72±0,26*
КД, відн. од.	0,62±0,05	1,23±0,21* 0,73±0,21* **	0,81±0,12* 0,70±0,08	0,95±0,16* 0,57±0,08**	1,20±0,37* 0,58±0,07**
МДА, нМоль/мл	3,49 ± 0,21	<u>4,62±0,58*</u> 4,37±0,53*	<u>3,68±0,42</u> 3,53±0,35	<u>3,53±0,21</u> 3,90±0,61	<u>3,40±0,55</u> 3,32±0,51
СОД, од./мгНв	4,14±0,31	3,99±0,22 3,34±0,20*	3,04±0,25* 3,91±0,36**	2,93±0,48* 3,45±0,36	2,38±0,37* 3,30±0,27* **

Примітка. У чисельнику – досліджувані показники до лікування, в знаменнику – у кінці лікування;

* – вірогідність відмінності порівняно з нормою; ** – вірогідність відмінності до та після лікування.

СОД (в 1,4 раза), однак слід зазначити, що концентрація її все ще була низькою (табл. 1).

Таким чином, у хворих на ХОБ до лікування спостерігалася активація процесів ПОЛ з надлишковим накопиченням його продуктів на тлі зниження активності основного ферменту антиоксидантної системи – СОД, причому це зниження відповідає важкості захворювання і ступеню порушення бронхіальної прохідності. Слід відмітити, що найвищий ступінь активності процесів ПОЛ встановлено в пацієнтів з легким перебігом захворювання при наявності дистальної обструкції (1-ша група). Відмічено прямий взаємозв'язок між активністю СОД і ОФВ₁, що можна розглядати як один із діагностичних критеріїв важкості ХОБ і загострення запального процесу в бронхолегеневій системі при обструктивних захворюваннях легень.

Мікрокліматотерапія сприяла нормалізації всіх біохімічних показників ПОЛ у хворих 3-ї групи, нормалізувала рівень КД у всіх обстежених групах і частково знижувала рівні ДК, ГП у хворих 1-ї, 2-ї і 4-ї груп. Відмічено підвищення активності СОД у хворих 2-ї, 3-ї і 4-ї груп, що спричинило зміни співвідношень перекисів ліпідів і їх інгібіторів з вірогідністю до рівноваги

в системах. Водночас, хоч застосування лікувального комплексу і забезпечує покращання функціонування захисних антирадикальних систем, активація СОД залишається низькою. Зазначені зміни в системі “ПОЛ-АОЗ”, на нашу думку, є основою позитивного терапевтичного ефекту від використання мікрокліматотерапії та адекватної бронхолітичної і протизапальної терапії, що і зумовлює необхідність розробки нових лікувальних комплексів із застосуванням антиоксидантів у комплексній терапії хворих з легким та важким перебігом ХОБ.

ВИСНОВКИ. ХОБ супроводжується суттєвим порушенням рівноваги в системі “ПОЛ-АОЗ”. Активність СОД прямо корелює з важкістю захворювання і ступенем порушення бронхіальної прохідності. Комплексне застосування високодисперсного аерозолу кам'яної солі та необхідної підтримувальної бронхолітичної терапії призводить до позитивних змін у функціонуванні системи “ПОЛ-АОЗ”, однак повної стабілізації процесів у системі не спостерігається, що і диктує необхідність розробки нових медичних технологій з можливим включенням антиоксидантів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ананенко А.А., Малиновская В.В., Перцова Н.Г. и др. Состояние системы ПОЛ-антиоксидантная защита при острой респираторной инфекции у детей и принципы патогенетической терапии // Педиатрия. – №1. – 1989. – С. 27-30.
2. Болевич С., Даниляк И.Г., Коган А.Х. Свободно-радикальные процессы у больных аллергической и неаллергической астмой // V Национальный конгресс по болезням органов дыхания: Тез. докл. М., 1995. – 1653 с.

3. Владимиров Ю.А. Роль нарушенной липидной мембраны в развитии патологических процессов // Пат. физиол. и эксп. терап. – 1989. – № 4. – С. 4-17.

4. Гольденберг Ю.М., Кокосов А.Н., Мищенко В.П. и др. Свободно-радикальное окисление в генезе болезней органов дыхания // Пульмонология. – 1991. – № 1. – С. 50-55.

5. Дзюблик О.Я., Недлінська Н.М., Слабченко В.Г. та ін. Стан системи вільнорадикального

окислення та системи антиоксидантного захисту у працівників вугільної промисловості // Укр. пульмонолог. журн. – 2000. – № 4 (30). – С. 27-30.

6. Иванова И.В. Клинико-функциональная характеристика степеней тяжести хронического обструктивного бронхита в фазе клинической ремиссии // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2000. – № 2. – С. 61-64.

7. Кульчицкий О.К., Потапенко Р.И., Новикова С.Н. Особенности пероксидного окисления липидов в тканях головного мозга и печени старых крыс при стрессе // Укр. біохім. журн. – 2001. – 73, № 4. – С. 73-78.

8. Овсянікова Л.М., Альокіна С.М., Дробінська О.В. та ін. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС // Методичні рекомендації. – Друкарня Агентства "Чорнобильінтерінформ", 1999. – 18 с.

9. Перцова П.М., Конопкіна Л.И., Гончар М.Н. Роль мембранных изменений в патогенезе дыхательной недостаточности // Укр. пульмонолог. журн. – 1994. – № 2. – С. 29-32.

10. Редчиц И.В., Боисова З.А., Гольденберг Ю.М. и др. Антиоксидантная обеспеченность, состояние перекисного окисления липидов у больных хроническим бронхитом // Пульмонология. – 1991. – №1. – С. 32-34.

11. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные заболевания легких // Тер. арх. – 1997. – № 3. – С. 5-9.

12. Фещенко Ю.І., Яшина Л.О. Хронічний обструктивний бронхіт // Лікування та діагностика. – 1998. – № 3. – С.27-31.

13. Яшина Л.О., Коржов В.І., Коржов О.Я. Вивчення впливу білково-вуглеводного концентрату із мідії та токоферолу ацетату на активність оксидантно-антиоксидантної системи у хворих на ХОБ // Укр. пульмонолог. журн. – 2001. – № 3. – С. 40-42.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО АЭРОЗОЛЯ КАМЕННОЙ СОЛИ НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ БРОНХИТОМ

Д.В. Решетарь, М.Л. Габор, О.И. Лемко

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ "РЕАБИЛИТАЦИЯ" МЗ УКРАИНЫ, УЖГОРОД

Резюме

В работе представлены результаты биохимических исследований состояния процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности основного фермента антиоксидантной системы – супероксиддисмутазы (СОД) у больных хроническим обструктивным бронхитом (ХОБ). Выявлено активацию процессов ПОЛ на фоне снижения активности СОД. Уменьшение последней СОД связано с тяжестью течения заболевания и степенью нарушения бронхиальной проходимости. Лечение с применением высокодисперсного аэрозоля каменной соли (микrokлиматотерапия) приводит к стабилизации процессов в системе "ПОЛ-антиоксидантная защита (АОЗ)".

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: процессы ПОЛ, активность СОД, микроклиматотерапия, хронический обструктивный бронхит.

THE INFLUENCE OF ROCK-SALT HIGH-DISPERSED AEROSOLE ON THE LIPIDS PEROXIDATION PROCESSES AND ANTIOXIDANT DEFENCE IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE BRONCHITIS

D.V. Reshetar, M.L. Gabor, O.I. Lemko

SCIENTIFIC-PRACTICAL AMALGATION "REHABILITATION" OF PHM OF UKRAINE, UZHGOROD

Summary

The results of biochemical investigation of lipid peroxidation and activity of superoxidedismutase in patients with chronic obstructive bronchitis are presented. The activation of lipid peroxidation processes against a background of lowering of superoxidedismutase activity was determined. This process correlated with the severity of disease course and changes of bronchial obstruction. Treatment with rock-salt high-dispersed aerosol promoted positive changes in lipid peroxidation-antioxidant defence system.

KEY WORDS: lipid peroxidation, superoxidedismutase activity, rock-salt high-dispersed aerosol, chronic obstructive bronchitis.

Отримано 14.05.2003 р.

Адреса для листування: Д.В. Решетарь, вул. Великокам'яна, 10, Ужгород, 88000, Україна.

ОЦІНКА ПРОЦЕСУ ЛІПІДНОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ В ОЦІ ХВОРИХ НА ВІКОВУ КАТАРАКТУ

О.В. Яценко

МІСЬКА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ "ЦЕНТР МІКРОХІРУРГІЇ ОКА", КИЇВ

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного спектра ліпідів елімінату з ока хворих на вікову катаракту та пацієнтів з прозорими кришталиками. Показано, що при посиленні помутніння кришталика в елімінаті вірогідно збільшується вміст олеїнової кислоти і знижується рівень поліненасичених жирних кислот.

На підставі проведених досліджень розраховано коефіцієнт ненасиченості ліпідів для кількісної оцінки процесу пероксидації в оці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, вікова катаракта, жирні кислоти, процес пероксидації, коефіцієнт ненасиченості.

ВСТУП. Ліпіди займають головне місце у забезпеченні функцій біологічних мембран (БМ) клітини, визначають їх в'язкість [4]. Серед ендогенних факторів, які порушують БМ, найбільш важливим є процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [2, 3]. Саме його розглядають як молекулярний механізм, що руйнує БМ при віковій катаракті (ВК) [1]. Відомо, що активація процесу ПОЛ у кришталику відбувається за рахунок окиснення поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) [2], а найбільш могутнім інгібітором цього процесу є олеїнова жирна кислота (ЖК) [9].

Метою даного дослідження була кількісна оцінка процесу ліпідної пероксидації в оці пацієнтів при розвитку вікової катаракти.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджували елімінат з 200 очей хворих на ВК і 64 очей пацієнтів без клінічних ознак помутніння кришталика. За віком і хворих на ВК, і пацієнтів контрольної групи поділили на три групи: 1-а – до 60 років; 2-а – від 61 до 70 років; 3-я – від 71 року і більше. Елімінат з ока було отримано методом електроелімінації [6] у нашій модифікації [8]. Визначення жирнокислотного складу ліпідів елімінату здійснювали за допомогою методу газорідинної хроматографії [7]. Отримані результати опрацьовували методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента [5].

© О.В. Яценко – к.мед.н., 2003.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 наведено дані про зміни рівня олеїнової ЖК і ПНЖК в елімінаті з ока хворих на ВК віком від 50 до 71 року і більше та пацієнтів того ж віку, але без клінічних ознак помутніння кришталика. Видно, що вже на початковій стадії ВК в елімінаті з ока хворих вірогідно зростає, порівняно з елімінатом пацієнтів з прозорими кришталиками, рівень олеїнової кислоти. У міру посилення помутніння кришталика вміст цієї кислоти продовжує збільшуватись у всіх вікових групах. Це можна розцінювати як підвищення антиоксидного захисту ока на початку розвитку ВК. Цікаво, що у пацієнтів з прозорими кришталиками рівень олеїнової кислоти залишається без змін у всіх вікових групах. Це дає змогу вважати зміни вмісту олеїнової кислоти в елімінаті з ока одним із діагностичних критеріїв розвитку катаракти.

Що стосується рівня ПНЖК в елімінаті з ока хворих на ВК, то він у міру посилення помутніння кришталика вірогідно знижується у всіх вікових групах. Вміст ПНЖК зменшується також в елімінаті з ока пацієнтів з прозорими кришталиками у міру старіння організму.

З метою кількісної оцінки процесу ПОЛ в оці при розвитку ВК ми запропонували визначення коефіцієнта ненасиченості ліпідів (КНН). Його розраховують за алгоритмом:

$$\text{КНН} = \frac{\text{Рівень олеїнової ЖК (\%)}}{\text{Рівень ПНЖК (\%)}}$$

Отримані дані представлено у таблиці 2.

Таблиця 1 – Рівень жирних кислот ліпідів елімінату (%) з ока хворих на вікову катаракту

Вік хворих	Найменування ЖК	Контрольна група	Початкова стадія ВК	Незріла ВК	Зріла ВК
50-60 років	Олеїнова ЖК	20,9±1,3	25,3±0,1*	28,0±1,8*	29,1±2,2*
	ПНЖК	22,8±1,3	15,9±1,0*	11,2±1,0*	10,8±0,7*
61-70 років	Олеїнова ЖК	20,5±1,5	26,6±1,1*	30,6±1,4*	29,1±2,2*
	ПНЖК	19,0±1,4	11,3±0,8*	11,2±0,9*	8,9±0,7*
від 71 року	Олеїнова ЖК	20,1±1,5	29,6±1,5*	29,3±2,0*	30,0±2,2*
	ПНЖК	11,4±1,1	9,5±0,9	8,9±1,9	9,1±0,7

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

Таблиця 2 – Коефіцієнт ненасиченості ліпідів елімінату з ока хворих

Вік хворих	50-60 років	61-70 років	від 71 року
Контрольна група	0,90±0,07	1,1±0,1	1,8±0,2
Початкова стадія ВК	1,60±0,08*	2,4±0,2*	3,1±0,4*
Незріла ВК	2,5±0,2*	2,7±0,2*	3,3±0,8*
Зріла ВК	2,7±0,5*	3,3±0,3*	3,3±0,2*

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

Видно, що у всіх трьох вікових групах КНН вірогідно зростає вже на початковій стадії ВК. При подальшому посиленні помутніння кришталіка підвищення КНН продовжується, що відбувається за рахунок збільшення вмісту олеїнової кислоти і зниження рівня ПНЖК.

На підставі отриманих даних запропоновано межові значення КНН для визначення груп ризику виникнення катаракти:

– у віці від 50 до 60 років до групи ризику можна віднести пацієнтів, у яких $0,9 \pm 0,07 < \text{КНН} < 1,6 \pm 0,08$;

– у віці від 61 до 70 років до групи ризику можна віднести пацієнтів, у яких

$1,1 \pm 0,1 < \text{КНН} < 2,4 \pm 0,2$;

– у віці від 71 року і більше до групи ризику можна віднести пацієнтів, у яких $1,8 \pm 0,2 < \text{КНН} < 3,1 \pm 0,4$.

ВИСНОВОК. Розроблений нами коефіцієнт ненасиченості на підставі даних про зміну співвідношення ЖК ліпідів елімінату з ока пацієнтів відкриває перспективи до більш поглибленого розуміння пускових механізмів катарактогенезу і може бути використаний для формування груп ризику серед пацієнтів щодо виникнення катаракти і при розробці патогенетично обґрунтованих профілактичних заходів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабижаев М.А., Деев А.И. Модификация мембранных структур при катаракте // *Вопр. мед. химии.* – 1987. – **33**, № 2. – С. 125-132.
2. Бабижаев М.А., Линберг Л.Ф. Доказательство окисления ненасыщенных жирных кислот при катаракте // *Биохимия.* – 1986. – **51**, № 10. – С. 1702.
3. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: *Наук. думка*, 1991. – 256 с.
4. Вельтищев Ю.Е., Юрьев Э.А., Воздвиженская Е.С. Биологически активные метаболиты мембранных глицерофосфолипидов в норме и при патологии // *Вопр. мед. химии.* – 1987. – **2**. – С. 2-9.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: *Высшая школа*,

1990. – 350 с.

6. Черикчи Л.Е. Электрофорез и электроэлиминация в экспериментальной и клинической офтальмологии: Автореф. дис... д-ра мед. наук: № 14-757 / *Одесский мед. ин-т им. Н.И. Пирогова.* – Одесса, 1971. – 45 с.

7. Яценко О.В., Брюзгина Т.С. Газохроматографический анализ жирнокислотного спектра липидов и уровня свободного холестерина в хрусталике глаза: Информационное письмо. – К., 1995. – 2 с.

8. Яценко О.В. Метод оцінки ступеня зрілості вікової катаракти: Інформаційний лист. – К., 1997. – 2 с.

9. Bhuyan K.C., Bhuyan D.K., Podos S.M. Lipid peroxidation in cataract of the human // *Life Sci.* – 1986. – **38**, № 16. – P. 1463-1471.

ОЦЕНКА ПРОЦЕССА ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ В ГЛАЗУ БОЛЬНЫХ ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТОЙ

О.В. Яценко

ГОРОДСКАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА "ЦЕНТР МИКРОХИРУРГИИ ГЛАЗА", КИЕВ

Резюме

Приведены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного спектра липидов элимината из глаза больных возрастной катарактой и пациентов с прозрачными хрусталиками. Показано, что при усилении помутнения хрусталика в элиминате достоверно увеличивается содержание олеиновой кислоты и снижается уровень полиненасыщенных жирных кислот.

На основании проведенных исследований рассчитан коэффициент ненасыщенности липидов для количественной оценки процесса пероксидации в глазу.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, возрастная катаракта, жирные кислоты, процесс пероксидации, коэффициент ненасыщенности.

EVALUATION OF OCULAR LIPID PEROXIDATION PROCESS IN PATIENTS WITH AGE CATARACT

O.V. Yatsenko

CITY CLINICAL HOSPITAL "CENTER OF THE EYE MICROSURGERY", KYIV

Summary

The results of gas chromatographic analysis of fatty acid lipid spectrum of eliminate from the eye of patients with age cataract and those with transparent lenses are presented. It has been shown that the level of oleic acid significantly increases and the level of polyunsaturated fatty acids decreases in eliminate when lenticular opacity becomes more intensive.

On the basis of investigations that have been carried out the coefficient of lipid unsaturation for quantitative evaluation of ocular peroxidation process has been determined.

KEY WORDS: lipids, age cataract, fatty acids, peroxidation process, unsaturation coefficient.

Отримано 15.04.2003 р.

Адреса для листування: О.В. Яценко, вул. Радгоспна, 28, кв. 209, Київ, 03142, Україна.

СТАН ФІБРОНЕКТИНУ ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ЙОГО ВЗАЄМОДІЯ З ІМУНОГЛОБУЛІНОМ G ПРИ СИСТЕМНІЙ СКЛЕРОДЕРМІЇ

Г.Б. Пелешенко, А.І. Шевцова, О.З. Бразалук, О.В. Курята
ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Досліджували участь фібронектину у формуванні імунних комплексів та його фрагментованість при системній склеродермії. Фібронектин-імуноглобулінові комплекси було виділено шляхом афінної хроматографії на протеїн-G-сефарозі та желатин-агарозі. Фрагментованість фібронектину досліджували методом імуноблоту з використанням специфічних антитіл до цього глікопротеїну. Встановлено, що при системній склеродермії відбуваються: 1) зростання рівня IgG у плазмі крові; 2) збільшення вмісту фібронектину в складі фібронектин-імуноглобулінових комплексів; 3) виникнення низькомолекулярних фрагментів фібронектину в плазмі крові; 4) зміни у частоті виявлення окремих фрагментів фібронектину, зв'язаного з IgG, порівняно з фібронектином плазми крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фрагменти фібронектину, фібронектин, імунні комплекси, системна склеродермія.

ВСТУП. Фібронектини (ФН) – група високомолекулярних глікопротеїнів плазми і екстрацелюлярного матриксу, які відіграють важливу роль у забезпеченні багатьох позаклітинних реакцій, у тому числі адгезії та міграції клітин, росту та диференціювання тканин, згортання крові, опсонізації чужорідних частинок тощо. Особливої уваги заслуговує здатність ФН взаємодіяти з імуноглобулінами та брати участь в утворенні та елімінації циркулюючих імунних комплексів, надлишок яких має місце при автоімунних захворюваннях [1].

Структуру ФН досить добре вивчено. Кожна з двох субодиниць молекули ФН має молекулярну масу (М.м.) 220-250 kDa і складається з 3 типів повторів амінокислотних послідовностей. Останні організовані у функціонально активні домени, які зв'язують певний ліганд: колаген, гепарин, ДНК, клітину тощо. Ділянки між доменами дуже чутливі до дії протеаз, тому при різних патологічних станах, пов'язаних з активацією протеолітичних систем, у крові та тканинних середовищах з'являються фрагменти фібронектину з визначеною молекулярною масою [17, 20]. Цікаво, що ці фрагменти проявляють самостійну біологічну активність, інколи зовсім іншу, ніж у складі нативного фібронектину. Наприклад, желатинозв'язувальний фрагмент ФН з М.м. 50 kDa збільшує активність протеїнази і зменшує синтез протео-

© Г.Б. Пелешенко, А.І. Шевцова – д.біол.н., проф., О.З. Бразалук – д.біол.н., проф., О.В. Курята – д.мед.н., проф., 2003.

гліканів та загальних білків [11]. Дослідження останніх років свідчать про те, що поява фрагментів ФН стимулює катаболічні процеси, особливо при автоімунних захворюваннях сполучної тканини [8]. При цьому слід очікувати зміни взаємодії ФН з імуноглобулінами, бо утворення фібронектин-імуноглобулінових (ФН-IgG) комплексів сприяє, з одного боку, зменшенню протеолітичної активності фрагментів ФН, а з іншого – елімінації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) з кровообігу. Однак дослідження у цьому ракурсі не проводили.

Метою нашої роботи було вивчення фрагментованості ФН та здатності фрагментів ФН взаємодіяти з IgG. Об'єктом дослідження була плазма крові жінок, хворих на системну склеродермію (ССД) – автоімунне захворювання, яке є природною моделлю гіперколагенозу і патогенетично включає зміни стану сполучно-тканинної та імунної систем [3].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Виділення ФН-IgG комплексів плазми крові проводили методом афінної хроматографії на протеїн-G-сефарозі HP (Amersham Biotech Limited, Sweden). Плазму в об'ємі 1 мл наносили на колонку з носієм розміром 0,7x2,5 см. Промивку колонки здійснювали 0,1 М фосфатним буфером (pH=7,2), який містить 1,45 М NaCl (ЗФР). Елюцію проводили 0,1 М гліцин-НСІ буферним розчином (pH=2,8). Максимальна швидкість елюції становила 4 мл/хв, об'єм фракцій – 1 мл. Елюат діалізували проти ЗФР

протягом 6 год, збирали та позначали як F1-“вільний і зв’язаний у імунних комплексах IgG”. Подальше очищення ФН-IgG комплексів проводили на желатин-агарозі (колонка розміром 0,9x2,0 см). Промивку робили за допомогою ЗФР, який містить 1 mM фенілметилсульфонілфлориду (PMSF), 1 mM ЕДТА. Слабо зв’язані з носієм білки віддаляли, промиваючи їх 50 mM трис-НСІ буферного розчину (рН=7,4), який містить 1 M NaCl, 1 mM PMSF, 1 mM ЕДТА. Елюцію проводили за допомогою 50 mM трис-НСІ (рН=7,5), 4 M сечовини, 1 mM PMSF, 1 mM ЕДТА. ФН та IgG у промивних фракціях та елюаті виявляли за допомогою DOT-аналізу з використанням кролячих антитіл до ФН (DAKO, Данія) і кон’югованих з пероксидазою антитіл до IgG фірми “Гамалея” (Москва, Росія) у титрі 1:2000 та 1:6000 відповідно. Елюат після сечовини діалізували проти ЗФР протягом 2 год при 4 °С, збирали і позначали як F2 – “ФН-IgG комплекси”. Усі операції концентрування білкових розчинів проводили методом центрифугування з використанням фільтрів фірми “Amicon” (США). Концентрацію білка у плазмі крові та виділених фракціях визначали за методом Бредфорд [5].

Кількісний вміст ФН у плазмі крові та фракціях F1 і F2 визначали методом ELISA з використанням тест-системи “НВО Иммунотех” (Росія). Рівень IgG і IgM у плазмі крові та IgG у фракції F2 – методом турбідиметрії із застосуванням тест-системи фірми “Human” (Германія). Вміст ЦІК у плазмі крові – за методом П.В. Стручкова [6].

Розділення та визначення молекулярної маси ФН і його фрагментів у плазмі крові та фракціях F1 і F2 проводили методом електрофорезу в 7,5 % ПААГ у присутності додецилсульфату натрію [2]. Кількість ФН у розрахунку на трек складала 50 нг. Присутність фрагментів ФН визначали методом імуноблоту з використанням кролячих антитіл до ФН та кон’югованих з пероксидазою антикролячих антитіл. Як негативний та позитивний контроль застосовували відповідні стандарти з набору ІФА-ФН.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням парамет-

ричних та непараметричних критеріїв Стюдента і Вілкоксона-Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати кількісної оцінки ФН, ЦІК та IgG представлено у таблиці 1. Як видно з таблиці, при ССД достовірно збільшується концентрація IgG у плазмі крові, а інші показники плазми (ФН та ЦІК) практично не відрізняються від норми. Виняток становить співвідношення ФН/IgG, яке у фракції F2 у хворих на ССД у 4 рази більше, ніж у контролі. Підвищений вміст ФН у складі комплексів IgG може свідчити про те, що ФН бере участь у формуванні імунних комплексів при ССД. У дослідженнях С.А. Васильєва, Г.С. Маслак [1, 4] також показано збільшення кількості таких комплексів, як ФН-фібрин, ФН-С1q і ФН-IgG, при імунокомплексних хворобах та прееклампсії.

Методом імуноблоту встановлено, що у досліджуваних зразках наявна не тільки нативна форма ФН з М.м. 220 kDa, а також і його фрагменти, причому фрагментованість ФН при ССД відрізняється від норми (рис. 1). Так, у плазмі хворих на ССД виявлено середньо- та низькомолекулярні фрагменти ФН, зокрема з М.м. 120, 75, 55-60, 45 та 35 kDa, які відсутні у контролі, а також значне підвищення частоти виявлення фрагментів з М.м. 160-175 kDa. Виникнення окремих фрагментів ФН у крові хворих на ССД може бути наслідком активації протеолітичних ферментів плазми крові та екстрацелюлярного матриксу. Наприклад, виявлені у плазмі крові при ССД фрагменти ФН з М.м. 160-175 та 120 kDa можуть утворюватись при щепленні термолізином та коагуляційними ферментами [7, 14], а фрагменти з М.м. 75, 55-60, 45 та 35 kDa – бути продуктами дії катепсину D, еластази, трипсину, химотрипсину та термолізину [13, 18, 21].

При ССД у фракції F1 відбуваються зміни у стані ФН порівняно з плазмою крові. У 25 % хворих на ССД у фракції F1 взагалі не виявляється субодиниця нативного ФН з М.м. 220 kDa. Частота визначення окремих фрагментів ФН у фракції F1 також відрізняється від плазми. Спостерігається підвищення частоти

Таблиця 1 – Кількісні показники плазми крові та фракції F2 хворих на системну склеродермію

Показники	Джерело	Хворі на системну склеродермію (n=12), M±m	Здорові особи (n=10), M±m
ФН, мкг/мл	плазма	265,01±22,73	234,04±49,10
ЦІК, мг/мл	плазма	1,27±0,11	1,31±0,22
IgG, г/л	плазма	24,41±0,92*	15,34±0,84
ФН/IgG, мкг/мг	F2	0,36±0,04*	0,09±0,05

Примітка. p – ступінь вірогідності відмінностей показників відносно контролю; * – p<0,01.

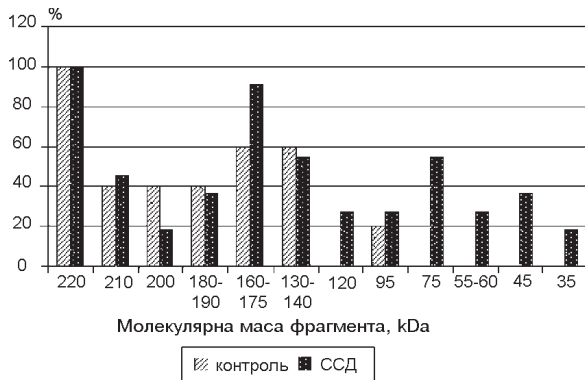


Рис. 1. Частота виявлення фрагментів ФН у плазмі крові здорових та хворих на системну склеродермію.

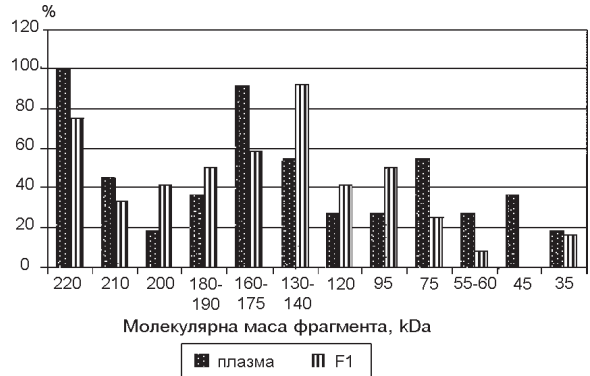


Рис. 2. Частота виявлення фрагментів ФН у плазмі крові та фракції F1 хворих на системну склеродермію.

виявлення окремих фрагментів ФН у фракції F1, особливо це стосується фрагментів з М.м. 130-140 kDa, а частота виявлення фрагментів ФН з М.м. 160-175, 75 та 55-60 kDa у фракції F1 значно менша, ніж у плазмі крові (рис. 2).

Неоднакова частота виявлення фрагментів з М.м. 160-175 та 130-140 kDa у складі фракції F1 свідчить про різний ступінь спорідненості з IgG. Останнє може бути наслідком різної конформації похідних фрагментів клітинозв'язувального домену молекули ФН [9]. Згідно з даними А.А. Rostagno, один із сайтів зв'язування IgG локалізовано на фрагменті з М.м. 25,9 kDa, що зосереджується на NH₂-термінальному домені молекули ФН і має структуру гомологічних повторів типу 1F1-5F1. Крім того, папаїновий Fc фрагмент IgG взаємодіє з ФН з такою ж K_d, що й ціла молекула IgG [15, 16]. Взаємодія ФН з IgG може відбуватись внаслідок утворення комплексу "антиген-антитіло" або зв'язування агрегатів імуноглобулінів при їх фагоцитозі. Результати DOT-аналізу, де як стандарт використовували очищений ФН (Sigma, США), не підтвердили наявності антитіл у ФН при ССД.

Аналіз літературних джерел свідчить про те, що деякі з фрагментів ФН мають інші біологічні властивості, ніж нативний ФН. Продукти деградації глікопротеїну можуть бути природними індуктивними лігандами для інтегринових рецепторів екстрацелюлярного матриксу. Так, фрагменти ФН з М.м. 140, 120, 50 та 45 kDa беруть участь у регуляції експресії матриксних протеїназ-1, -13 та стромелізіну і тим самим індують катаболізм колагену і агрегану сполучної тканини при артритах [10, 11, 19]. Протеїнази у сайтах запалення можуть звільняти фрагменти ФН, зокрема з М.м. 120 та 72 kDa, які є вибірково хемотаксичними до моноцитів [12, 22]. З літературних джерел відомо, що фрагмент з М.м. 45 kDa стимулює та прискорює колагенотромбоцитарну адгезію [23].

Крім того, існують дані щодо мітогенної активності гепаринзв'язувального фрагмента з М.м. 35 kDa [18]. Таким чином, дискретні біологічно активні фрагменти ФН можуть відображати деградацію тканин та зміну взаємодії і руху клітин у сайтах запалення.

Можна стверджувати, що фрагменти ФН, зберігаючи свої опсонічні властивості у складі імунних комплексів, відіграють значну роль у їх кліренсі. Збільшення вмісту ФН у комплексах IgG при ССД може відбуватись у результаті посиленого звільнення окремих фрагментів цього глікопротеїну внаслідок активації протеолітичних ферментів. Правомірно припустити, що надлишкова концентрація ФН у місцях запалення може активувати процес локального фіброзу. Отримані дані свідчать про те, що вивчення вмісту та фрагментованості ФН у складі імунних комплексів при ССД має певне діагностичне значення, а також може дати додаткову інформацію про активність запального процесу.

ВИСНОВКИ. 1. Встановлено, що рівень ФН і ЦІК у плазмі крові хворих на ССД не змінюється порівняно з практично здоровими особами.

2. При ССД спостерігається напруження гуморальної ланки імунітету у вигляді підвищення рівня IgG.

3. У плазмі крові хворих на ССД значно підвищується співвідношення ФН/IgG у складі ФН-IgG комплексів, що може мати додаткове діагностичне значення.

4. У плазмі крові хворих на ССД спостерігається ширший спектр фрагментів ФН, особливо низькомолекулярних, порівняно з нормою.

5. У фракції F1 частота виявлення фрагментів ФН з М.м. 130-140 kDa більша, а фрагментів з М.м. 160-175, 75 та 55-60 kDa менша, ніж у плазмі крові при ССД.

ЛІТЕРАТУРА

1. Васильев С.А., Ефремов Е.Е., Савенко Т.А. и др. Циркулирующие иммунные комплексы плазменного фибронектин-фибронектин-фибрин при некоторых заболеваниях человека // *Терапевт. архив.* – 1994. – **66**, № 2. – С. 63-65.
2. Гааль Э., Медьеша Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. – М.: Мир, 1982. – 446 с.
3. Гусева Н.Г. Эволюция представлений о системной склеродермии // *Терапевт. архив.* – 1995. – № 5. – С. 50-53.
4. Маслак Г.С., Бразалук О.З. Деградація фібронектину та взаємодія фібронектинових фрагментів з IgG при нормальній вагітності та преєклампсії // *Мед. хімія.* – 2003. – **5**, № 1. – С. 36-40.
5. Практическая химия белка / Под ред. А. Дарбре. – М.: Мир, 1989. – 621 с.
6. Стручков П.В., Константинова Н.А., Лаврентьев В.В., Чучалин А.Г. Скрининг-тест для оценки патогенных свойств иммунных комплексов // *Лаб. дело.* – 1985. – № 7. – С. 410-413.
7. Celle P.L., Blumenstock F.A., Saba T.M. Blood-borne fragments of fibronectin after thermal injury // *Blood.* – 1991. – **77**, № 9. – P. 2037-2041.
8. Esparza J., Vilardell C., Calvo J. et al. Fibronectin upregulates gelatinase B (MMP-9) and induces coordinated expression of gelatinase A (MMP-2) and its activator MT1-MMP (MMP-14) by human T lymphocyte cell lines. A process repressed through RAS/MAP kinase signaling pathways // *Blood.* – **94**, № 8. – P. 2754-2766.
9. Fukai F., Ohtaki M., Fujii N. et al. Release of biological activities from quiescent fibronectin by a conformational change and limited proteolysis by matrix metalloproteinases // *Biochemistry.* – 1995. – **34**. – P. 11453-11459.
10. Homandberg G.A., Hui F., Wen C. et al. Fibronectin-fragment-induced cartilage chondrolysis is associated with release of catabolic cytokines // *Biochemistry J.* – 1997. – **321**. – P. 751-757.
11. Homandberg G.A. Potential regulation of cartilage metabolism in osteoarthritis by fibronectin fragments // *Frontiers in Bioscience.* – 1999. – № 4. – P. 713-730.
12. Lohr K.M., Kurth D.L., Xie J.M. et al. The amino-terminal 29- and 72 kd fragments of fibronectin mediate selective monocyte recruitment // *Blood.* – 1990. – **76**, № 10. – P. 2117-2124.
13. Oho S., Daley S.J., Koo E.W.Y. et al. Increased elastin-degrading activity and neointimal formation in porcine aortic organ culture: reduction of both features with a serine proteinase inhibitor // *Arterioscler Thromb.* – 1995. – **15**. – P. 2200-2206.
14. Pankov R., Yamada K.M. Fibronectin at a glance // *Journal of Cell Science.* – 2002. – **115**. – P. 3861-3863.
15. Rostagno A.A., Frangione B., Gold L. Biochemical studies on the interaction of fibronectin with Ig // *Journal of Immunology.* – 1991. – **146**, № 8. – P. 2687-2693.
16. Rostagno A., Williams M., Frangione B., Gold L.I. Biochemical analysis of the interaction of fibronectin with IgG and localisation of the respective binding sites // *Molecular Immunology.* – 1996. – **33**, № 6. – С. 561-572.
17. Saito Sh., Yamaji N., Yasunaga K. et al. The fibronectin extra domain A activates matrix metalloproteinase gene expression by an interleukin-1-dependent mechanism // *J. Biological Chemistry.* – 1999. – **274**, № 43. – P. 30756-30763.
18. Savill C.M., Ayad S.R. The mitogenic activity of a heparin-binding fibronectin fragment (Mr 35,000) produced by cathepsin D digestion // *Anticancer Research.* – 1986. – **6**. – P. 321-326.
19. Stanton H., Ung L., Fosang A.J. The 45 kDa collagen-binding fragment of fibronectin induces matrix metalloproteinase-13 synthesis by chondrocytes and aggrecan degradation by aggrecanases // *Biochemistry J.* – 2002. – **364**. – P. 181-190.
20. Tchougounova E., Forsberg E., Angelborg G. et al. A role for heparin-dependent mast cell chymase in fibronectin degradation // *J. Biological Chemistry.* – 2001. – **276**, № 6. – P. 3772-3777.
21. Tressel T., McCarthy J.B., Calaycay J. et al. Human plasma fibronectin. Demonstration of structural differences between the A- and B-chains in the III CS region // *Biochemistry J.* – 1991. – **274**, № 3. – P. 731-738.
22. Trial J., Baughn R.E., Wygant J.N. et al. Fibronectin fragments modulate monocyte VLA-5 expression and monocyte migration // *J. Clinical Investigation.* – 1999. – **104**, № 4. – P. 419-430.
23. Winters K.J., Walsh J.J., Rubin B.G., Santoro S.A. Platelet interactions with fibronectin: divalent cation-independent platelet adhesion to the gelatin-binding domain of fibronectin // *Blood.* – 1993. – **81**, № 7. – P. 1778-1786.

СОСТОЯНИЕ ФИБРОНЕКТИНА ПЛАЗМЫ КРОВИ И ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ИММУНОГЛОБУЛИНОМ G ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

А.Б. Пелешенко, А.И. Шевцова, А.З. Бразалук, А.В. Курята
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Исследовали участие фибронектина в формировании иммунных комплексов и его фрагментированность при системной склеродермии. Фибронектин-иммуноглобулиновые комплексы были выделены путём аффинной хроматографии на протеин-G-сефарозе и желатин-агарозе. Фрагментированность фибронектина исследовали методом иммуноблота с использованием специфичных антител к этому гликопротеину. Установлено, что при системной склеродермии происходят: 1) возрастание уровня IgG в плазме крови; 2) увеличение содержания фибронектина в составе фибронектин-иммуноглобулиновых комплексов; 3) возникновение низкомолекулярных фрагментов фибронектина в плазме крови; 4) изменения в частоте выявления отдельных фрагментов фибронектина, связанного с IgG, по сравнению с фибронектином плазмы крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фрагменты фибронектина, фибронектин, иммунные комплексы, системная склеродермия.

THE STATE OF BLOOD PLASMA FIBRONECTIN AND ITS INTERACTION WITH IMMUNOGLOBULIN G AT SCLERODERMIA SYSTEMATICA

G.B. Peleshenko, A.I. Shevtsova, O.Z. Brazaluk, O.V. Kuriyata
DNIPROPETROVSK STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The participation of fibronectin in formation of immune complexes and its fragmentation in sclerodermia systematica was investigated. Fibronectin-immunoglobulin complexes were isolated by affinity chromatography on protein-G-sepharose and gelatin-agarose. The fragmentation of fibronectin was studied by immunoblotting using specific antibodies to fibronectin. It is determined that at sclerodermia systematica occur: 1) the rise of IgG level in blood plasma; 2) the increase of content of fibronectin in composition of fibronectin-immunoglobulin complexes; 3) the occurrence of low-molecular fragments of fibronectin in blood plasma; 4) changes in frequency of revealing of separate fragments of bound with IgG fibronectin in comparing with blood plasma fibronectin.

KEY WORDS: fibronectin fragments, fibronectin, immune complexes, sclerodermia systematica.

Отримано 14.05.2003 р.

Адреса для листування: Г.К. Пелешенко, б-р Слави, 3, кв. 288, Дніпропетровськ, 49106, Україна.

КІНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА Na,K,Cl-КОТРАНСПОРТУ В ЕРИТРОЦИТАХ ПРИ ХВОРОБІ АЛЬЦГЕЙМЕРА

І.Ю. Байса

ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Отримано дані, що іонна мембранопатія при хворобі Альцгеймера проявляється надмірним нагромадженням в еритроцитах іонів Na^+ на фоні пригнічення механізму Na,K,Cl-котранспорту. Представлено характеристику цього способу іонної транслокації, кінетику змін його активності в умовах коливань іонного складу позаеритроцитарного середовища.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: еритроцити, натрій, калій, Na,K,Cl-котранспорт, хвороба Альцгеймера.

ВСТУП. Зміни структури та функцій плазматичних мембран є надзвичайно важливою ланкою патогенезу захворювань, які належать до категорії "іонні мембранопатії". Їх спільною особливістю є те, що численні мембранозв'язані структури, перш за все іонні транспортери, набувають невластивих для фізіологічного стану характеристик [4, 6, 10]. Такі явища зареєстровано при низці психічних захворювань, зокрема шизофренії, афективних розладах, хронічному алкоголізмі [5, 7, 8]. Порушення збудливих та метаболічних процесів, що виникають у нервових клітинах при вказаних захворюваннях, зумовлюють розвиток значних дефектів іоно-транспортувальних систем еритроцитів, особливо в механізмах, які здійснюють транслокацію Na^+ .

Добре відомо, що переміщення Na^+ через плазматичну мембрану здійснюється багатьма транспортними системами, які фармакологічно можна поділити на дві групи: овабаїн-чутливі, представлені головним чином Na,K-АТФазою, та овабаїн-резистентні, що не залежать від функціонування натрієвої помпи. Серед останніх особливого значення надають Na,K,Cl-котранспорту та Na/Li-протитранспорту, оскільки їх параметри можуть бути критеріями діагностики певних патологічних процесів [1, 2, 3]. Активність вказаних іоно-транспортувальних механізмів регулюється не лише такими чинниками, як гормони, але й фізичними (механічними) та хімічними стимулами.

© І.Ю. Байса, 2003.

Дослідження особливостей трансмембранного перенесення моновалентних іонів, яке проходить за посередництвом овабаїн-резистентних механізмів, базується на тому очевидному факті, що є можливість аналізувати названі процеси за допомогою тих самих методів, які застосовують при вивченні ферментів [3, 11]. Функціональна характеристика процесів іонної транслокації включає встановлення їх температурної, водневої (рН), осмотичної, іонної (коіонної) залежності. Однак найчастіше ці потоки аналізують як функції зовнішньоклітинної концентрації Na^+ або K^+ .

Метою даного дослідження було вивчення розподілу Na^+ та K^+ з обох боків еритроцитарної мембрани та встановлення залежності швидкості Na, K, Cl-котранспорту в еритроцитах від концентрації цих іонів у позаеритроцитарному середовищі в осіб із хворобою Альцгеймера.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 33 особи, в яких на підставі даних клініко-психологічних, лабораторних та інтегральних методів дослідження діагностовано хворобу Альцгеймера. Крім того, нозологічна діагностика базувалась на критеріях МКХ-10 [9]. Усі обстежені пацієнти не мали захворювань, при яких порушення кінетичних характеристик овабаїн-резистентних Na-транспортувальних систем є встановленим фактом (есенціальна гіпертензія, цукровий діабет обох типів тощо). До групи порівняння увійшли 30 нормотензивних, нормоглікемічних осіб, які вели тверезий спосіб життя.

Одноразовий забір крові в гепаринізовані пробірки здійснювали за умови тридобової перерви в лікуванні, щоб уникнути впливу на іон-транспортувальні функції еритроцитарної мембрани медикаментозних середників. Ізолвовані еритроцити з метою видалення позаклітинного Na^+ 4-кратно промивали розчином хлориду тетраметиламонію, що містив 5 ммоль/л трис-НCl (рН – 7,4 при температурі 4 °С; осмоляльність – 300 мОсмоль/кг) та 0,1 ммоль/л овабаїну. Надалі частину еритроцитів гемолізували 10 ммоль/л NH_4OH . Вимірювання концентрації Na^+ та K^+ в еритроцитах (Na_i^+ , K_i^+), плазмі крові (Na_e^+ , K_e^+) та середовищах потоку проводили методом полум'яної фотометрії.

Для дослідження Na,K,Cl-котранспорту в еритроцитах останні 5 разів промивали 110 ммоль/л MgCl_2 – сахарозним розчином (рН – 7,4 при температурі 4 °С; осмоляльність – 300 мОсмоль/кг). Вимірювання швидкості вказаного коіонного потоку проводили методом, що базується на визначенні відмінності між концентраціями Na^+ з обох боків еритроцитарної мембрани при інкубації еритроцитів в середовищі, яке містить два транспортні інгібітори: овабаїн – 0,1 ммоль/л та фуросемід – 0,5 ммоль/л [12]. У вільному від Na^+ розчині цей іон заміщали холінхлоридом, у вільному від K^+ – весь KCl заміщали NaCl. Крім того, вказану іонну транслокацію вивчали як функцію концентрацій позаклітинного Na^+ та K^+ . Відповідні стандарти названих іонів готували на розчині хлористого тетраметиламонію та MgCl_2 . Результати дослідження було обчислено варіаційно-статистичним методом Стьюдента-Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 неведено результати вимірювання концентрацій двох моновалентних іонів – Na^+ та K^+ – з обох боків еритроцитарної мембрани в крові осіб, об'єднаних у групу порівняння (нормотензивні, нормоглікемічні волонтери), та паці-

єнтів, в яких констатовано наявність однієї з різновидностей деменцій – хворобу Альцгеймера.

Перш за все звертає на себе увагу надмірне нагромадження еритроцитами осіб із хворобою Альцгеймера іонів Na^+ , що зумовлює істотне зменшення (на 32 % стосовно контролю) індексу $\text{K}_i^+ / \text{Na}_i^+$ в цих клітинах. Оскільки за фізіологічних умов вказаний індекс перебуває в діапазоні 6,5-7,2 і є надійним критерієм активності Na,K-АТФази еритроцитарної мембрани [10], зазначене явище правомірно розглядати як вказівку на пригнічення процесу активного переносу Na^+ з еритроцитів у позаклітинне середовище. З іншого боку, до виникнення порушень іонної асиметрії з обох боків плазматичної мембрани може бути причетною модуляція властивостей однієї з різновидностей овабаїн-резистентної транслокації моновалентних іонів – фуросемід-чутливого тетраіонного Na,K,Cl-котранспорту, швидкість якого в еритроцитах хворих виявилась різко зниженою.

В цілому відхилення при низці патологічних станів тих механізмів транспорту іонів, що не залежать від функціонування натрієвої помпи, добре відомі. Однак уточнення їх внеску в розвиток порушень іонного гомеостазу ускладнюється тим, що до уваги беруться лише результати вимірювання загальної швидкості того чи іншого транспортованого потоку без кінетичного аналізу властивостей конкретних механізмів іонної транслокації.

На даний час опрацьовано відносно нескладні, з доброю відтворюваністю методи дослідження різноманітних характеристик іонотранспортних систем, що не потребують застосування мічених елементів. Їх принцип зводиться до встановлення відмінності між концентраціями певних іонів у нульовий та завершальний періоди інкубації аналізованих клітин при відсутності та наявності відповідних транспортних інгібіторів.

При проведенні даного дослідження було взято до уваги той факт, що в зазначеному

Таблиця 1 – Концентрація K^+ та Na^+ (ммоль) в еритроцитах та плазмі крові, індекс співвідношення $\text{K}_i^+ / \text{Na}_i^+$ (од.), швидкість Na,K,Cl-котранспорту (ммоль Na^+ × 1 кг клітин⁻¹ × 1 год⁻¹) в еритроцитах практично здорових осіб та хворих на хворобу Альцгеймера

Показник	Група порівняння (контроль)	Група осіб із хворобою Альцгеймера
K_i^+	102,3±6,7	95,2±8,3
Na_i^+	14,2±0,9	19,7±0,8*
K_e^+	3,7±0,3	4,0±0,4
Na_e^+	149,2±9,6	145,0±11,7
$\text{K}_i^+ / \text{Na}_i^+$	7,0±0,5	4,8±0,4*
Na,K,Cl-котранспорт	0,62±0,09	0,27±0,05*

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

котранспортному процесі надходження K^+ в клітину стимулюється натрієм, а Na^+ – калієм, така взаємостимуляція транспорту іонів повністю залежить від наявності відповідної кількості хлору [10]. Подальшим завданням нашої праці було встановлення зв'язку між концентрацією позаклітинного K^+ та інтенсивністю переміщення іонів за допомогою вказаного механізму. Спостереження виконано при 5 величинах позаклітинного K^+ , що перебували в діапазоні 0-6 ммоль/л.

На рисунку 1 наведено дані, згідно з якими напівмаксимальна стимуляція швидкості Na, K, Cl -котранспорту в еритроцитах практично здорових осіб спостерігається при концентрації позаклітинного K^+ на рівні 2,0 ммоль/л, а в цілому залежність між обома вказаними параметрами має лінійний характер. Вірогідних відмінностей у величинах, виміряних в еритроцитах, ізольованих з крові осіб обох груп, не виявлено.

Позаклітинний Na^+ діє як ефектор, зумовлюючи високу активність механізмів, що забезпечують перенесення цього іона, проти концентраційного градієнта, тобто спостерігається Na -самопригнічення. Тому одним із завдань було встановлення особливостей впливу позаклітинного Na^+ на швидкість Na, K, Cl -котранспорту. Доцільність проведення такого дослідження мотивована тим, що Na^+ є вирішальним хімічним елементом, який детермінує інтенсивність обміну моновалентних іонів [11]. У нашому дослідженні швидкість Na, K, Cl -ко-

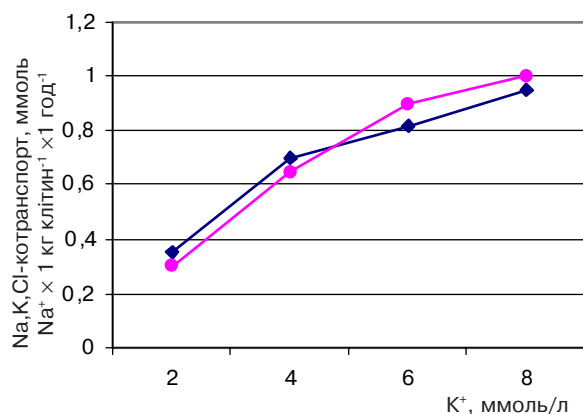


Рис.1. Залежність між концентрацією позаклітинного K^+ та швидкістю Na, K, Cl -котранспорту в еритроцитах практично здорових осіб (♦) і пацієнтів із хворобою Альцгеймера (●)

транспорту в еритроцитах усіх осіб, які перебували під спостереженням, було виміряно при 5 висхідних (у діапазоні 0-150 ммоль/л) концентраціях позаклітинного Na^+ (рис. 2).

При аналізі кінетичних параметрів Na, K, Cl -котранспорту нами отримано дані про те, що в еритроцитах цей процес є функцією концентрації позаклітинного Na^+ і швидкість вказаної транслокації іонів зростає зі збільшенням концентрації останнього, поки не досягне максимуму (при 150 ммоль Na^+ для еритроцитів практично здорових осіб), як це показано на рисунку 2. Подальше підвищення концентрації Na^+ сповільнює вказаний котранспортний потік. Отже, залежність між швидкістю Na, K, Cl -котранспорту та концентрацією Na^+ підпорядковується кінетиці насичення. Проте на основі результатів аналізу кривих, побудованих на рисунку 2 для еритроцитів осіб, об'єднаних у дві групи, можна дійти висновку про наявність істотних відмінностей у характері цього зв'язку при хворобі Альцгеймера, тому що в цьому випадку ефект зазначеного насичення настав при концентрації Na^+ на рівні 90 ммоль.

ВИСНОВОК. Одними з причин надмірного нагромадження внутрішньоеритроцитарного Na^+ при хворобі Альцгеймера є пригнічення швидкості активного транспорту цього іона та сповільнення Na, K, Cl -котранспорту при одночасній модуляції властивостей його натрієвої компоненти.

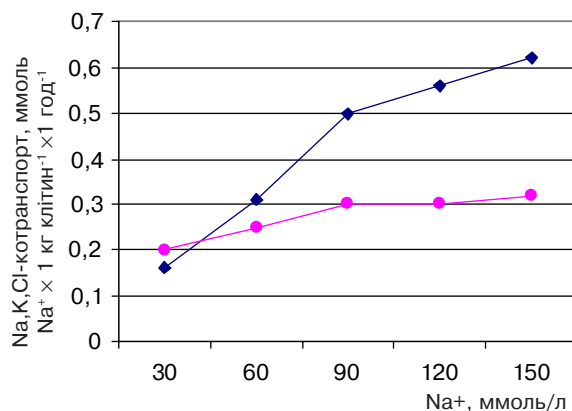


Рис.2. Залежність між концентрацією позаклітинного Na^+ та швидкістю Na, K, Cl -котранспорту в еритроцитах практично здорових осіб (♦) і пацієнтів із хворобою Альцгеймера (●)

ЛІТЕРАТУРА

1. Байса І.Ю. Na/Li -протитранспорт в еритроцитах при лакунарній та амнестичній формах судинних деменцій // Експерим. та клініч. фізіол. і біохім. – 2002. – № 4. – С. 47-51.

2. Влох І.Й., Мороз О.М., Байса І.Ю., Гринчишин Н.М. Na/Li -протитранспорт в еритроцитах при хворобі Альцгеймера // Архів психіатрії. – 2001. – № 4 (27). – С. 41-43.

3. Влох І.Й., Мороз О.М. Про доцільність дослідження властивостей еритроцитних йон-транспортуючих систем у психіатрії // VIII конгрес Світової федерації українських лікарських товариств. – Львів-Трускавець, 2000. – 235 с.

4. Мороз О.М., Влох І.Й., Байса І.Ю. Вклад іонних транспортерів в регуляцію клітинного об'єму // Наук. вісник Львів. держ. академії ветеринар. медицини ім. С.З. Гжицького. – 2000. – 2, № 3-4. – С. 72-77.

5. Мороз О.М., Влох І.Й., Губар З.Д. Особливості йонного транспорту в еритроцитах у хворих на ендogenous психози // Лікар. вісник. – 1993. – 40, № 2 (130). – С. 99-102.

6. Мороз О.М., Влох І.Й. Роль механізмів транспортування моновалентних іонів у розвитку іонних мембранопатій // Укр. біохім. журн. – 2002. – 74, № 4а. – С. 63-64.

7. Мороз О.М., Гринчишин Н.М., Панас А.Р. Порушення Na-транспортуючих систем за алкоголізму та їх корекція фуразолідом // Галиц. лікар.

вісник. – 2000. – 7, № 3. – С. 90-93.

8. Мороз О.М., Панас А.Р., Бурий О.А., Гринчишин Н.М. Фуросемід-чутливий Na,K,Cl-котранспорт в еритроцитах при хронічній алкогольній інтоксикації // Актуальні проблеми медицини, біології, ветеринарії і сільського господарства. – Львів, 1998. – С. 74-77.

9. Сарторіус Н. Розуміння класифікацій психічних розладів МКХ-10. – Львів: Фенікс, 1999. – 95 с.

10. Шкаволяк А.В., Гринчишин Н.М. Дослідження Na-транспортуючих систем в діагностиці іонних мембранопатій // Експерим. та клініч. фізіол. і біохім. – 2000. – № 4. – С. 63-66.

11. Шкаволяк А.В. Кінетичний аналіз Na/Li-протитранспорту при дослідженні проникності еритроцитарної мембрани для іонів Na⁺ // Експерим. та клініч. фізіол. і біохім. – 1999. – № 1. – С. 7-11.

12. De la Sierra P. Actividad los sistemas de transport Na⁺,K⁺,Cl⁻, countertransport Na⁺ – Li⁺, diffusion pasiva de Na⁺ en hipertension arterial essential // Med. Clin. – 1988. – 90. – P. 187-189.

КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Na,K,Cl-КОТРАНСПОРТА В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

И.Ю. Байса

ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

Получены данные, что ионная мембранопатия при болезни Альцгеймера проявляется избыточным накоплением в эритроцитах ионов Na⁺ на фоне угнетения механизма Na,K,Cl-котранспорта. Представлены характеристика этого способа ионной транслокации, кинетика изменений его активности в условиях колебаний ионного состава внеэритроцитарной среды.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эритроциты, натрий, калий, Na,K,Cl-котранспорт, болезнь Альцгеймера.

THE KINETIC CHARACTERISTIC OF Na,K,Cl-COTRANSPORT IN ERYTHROCYTES AT ALZHEIMER'S DISEASE

I.Y. Bajsa

LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The case indicate that the ionic membranopathy in patients with Alzheimer's disease is manifested by the abundance accumulation of Na⁺ against a background of oppression of Na,K,Cl-cotransport mechanism in erythrocytes. The characteristic of this ionic translocation, kinetics of exchange its activity in the conditions of ionic content oscillations of extracellular medium are shown.

KEY WORDS: erythrocytes, sodium, potassium, Na,K,Cl-cotransport, Alzheimer's disease.

Отримано 15.04.2003 р.

Адреса для листування: І.Ю. Байса, вул. Наукова, 56, кв. 68, Львів, 79060, Україна.

ДІЯ ЕМБРІОСПЕЦИФІЧНИХ ФАКТОРІВ НА ПЕРЕБІГ ГОСТРОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ У ЩУРІВ

О.Ю. Петренко, Д.В. Черкашина

ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ

Вивчено вплив попередньої обробки щурів ембріоспецифічними факторами (ЕСФ), які було отримано з ембріонів людини 9-12 тижнів гестації, на розвиток гострої інтоксикації, що була викликана одноразовим введенням тетрахлорметану (ТХМ). Показано часткову превентивну дію ЕСФ щодо аміотрансферазної активності сироватки крові через 24, 48 та 72 години після отруєння. Позитивний ефект попередньої обробки ЕСФ щодо вмісту ТБК-активних продуктів в сироватці отруєних тварин спостерігався через 24 та 48 годин, на третю добу він нівелювався. В той же час каталазна активність та швидкість накопичення ТБК-активних продуктів цілком нормалізувались. Отримані результати є свідченням перспективності застосування ЕСФ щодо гострої інтоксикації ТХМ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ембріоспецифічні фактори, гостра інтоксикація, тетрахлорметан, аміотрансферази, ТБК-активні продукти, каталазна активність.

ВСТУП. Пошук і розробка ефективних засобів для лікування печінкової патології різної етіології з використанням біологічних препаратів – одна з актуальних проблем сучасної медицини. Класичною моделлю експериментального токсичного гепатиту є гостра інтоксикація гепатотропною отрутою – тетрахлорметаном (ТХМ).

Як відомо, ТХМ викликає пригнічення біосинтезу протеїнів шляхом дисоціації полірибосом та утворення комплексів активних метаболітів із білками, а також стимулює вільнорадикальні процеси, активуючи цитохром Р-450 [4, 8]. Сукупність цих пошкоджень веде до розвитку осередку некрозу в печінці та активації фібротичних змін в органі. Встановлено, що важливу роль в регуляції процесів інтоксикації та подальшої репарації печінки відіграє комплекс про- і протизапальних цитокінів, особливо фактора некрозу пухлини α (ФНП α), трансформуючого фактора росту β (ТФР β), інтерлейкінів (ІЛ-1 і ІЛ-6) [6, 8]. Існує декілька робіт, що демонструють ефективність застосування окремих цитокінів і факторів росту, виділених із фетальних та зрілих тканин, для лікування СС14-індукованого гепатиту. Було показано превентивну дію фактора росту гепатоцитів, ІЛ-6, ФНП α , епідермального фактора росту, альфафетопротеїну, фактора росту фібробластів на розвиток пошкодження пе-

чінки, що було викликано введенням ТХМ [12, 13, 14]. Дослідники спостерігали як зниження рівня показників цитолізу, таких, як аміотрансферазна активність та рівень ТБК-активних продуктів у сироватці експериментальних тварин, так і нормалізацію стану антиоксидантної системи печінки. Також є дані про відновлення цитокінового профілю у старих тварин після введення екстракту, отриманого з плодів вівці [7]. Таким чином, існує вірогідність того, що корекція цитокінового профілю реципієнта може привести до зменшення ступеня пошкодження органа.

Як відомо, під час ембріонального розвитку ссавців спостерігаються інтенсивні процеси проліферації та диференціювання. Показано, що вміст цитокінів та факторів росту в ембріональних тканинах, особливо на початкових стадіях гестації, значно перевищує їх рівень в зрілих органах [11, 12]. Таким чином, використання ембріональних тканин та препаратів може бути ефективним засобом корекції патологічного стану після введення ТХМ. Раніше ми вивчили вплив трансплантації кріоконсервованих клітин ембріональної печінки на інтенсивність перекисних процесів та перебіг гострого токсичного гепатиту [5]. Результати цих досліджень дозволили припустити, що попереднє введення тваринам безклітинних ембріоспецифічних факторів (ЕСФ) може сприяти зниженню інтенсивності розвитку СС₁₄-

індукованого гепатиту завдяки підготовці організму реципієнта до інтоксикації. Для вивчення можливої превентивної дії ЕСФ було обрано термін попередньої обробки тварин – 24 год, який вважається достатнім щодо реалізації ефектів ЕСФ та недостатнім для деградації його компонентів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували білих нелінійних щурів-самців вагою 150-200 г (n=36). Усі процедури з тваринами проводили з ефірним наркозом.

Гостру інтоксикацію моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням 50 % олійного розчину ТХМ у дозі 0,3 мл на 100 г маси.

Як ембріоспецифічні фактори використовували цитозоль фетальних тканин людини 9-12 тижнів гестації, який було отримано в результаті високошвидкісного центрифугування 40 % гомогенату при 105 000 г протягом 1,5 годин. Усі процедури з отримання цитозолу були здійснені в стерильних умовах.

Тварини були розподілені на групи: 1 – контрольна – тварини, яким за 24 години до інтоксикації вводили у стегнову вену 0,3 мл/100 г фізіологічного розчину; 2 – дослідна – тварини, яким за 24 години до індукції гепатиту в стегнову вену вводили 0,3 мл/100 г цитозолу; 3 – інтактні тварини. Кров з хвостової вени отримували через 24, 48 і 72 годин після введення ТХМ. У сироватці крові визначали активності аспартатамінотрансферази (АСТ) і аланінамінотрансферази (АЛТ), використовуючи стандартні набори. Активність ферментів виражали в од./л сироватки. Динаміку накопичення ТБК-активних продуктів визначали за методом [1], показник виражали в мкМДА/л сироватки.

Після останнього отримання крові тварин декапітували, печінку перфузували *in situ* фізіологічним розчином і готували 25 % гомогенат на 50 мМ трис-НСІ буфері, який містить 50 мМ NaCl. В гомогенаті печінки щурів вивчали інтенсивність індукованого перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Для цього гомогенат інкубували протягом 10 хвилин у середовищі, що містить 50 мМ трис-НСІ, 50 мМ NaCl, 0,25 мМ аскорбату і 12 мкМ FeSO₄. Швидкість накопичення ТБК-активних продуктів визначали за методом [2] і виражали в пмоль МДА/мг білка за 1 хвилину. Активність каталази визначали спектрофотометрично за зменшенням кількості перекису водню при 240 нм [3]. Активність ферменту виражали в мкмоль Н₂О₂/мг білка за 1 хвилину.

Вміст білка в гомогенаті печінки визначали біуретовим методом.

У роботі використовувались експрес-набори та реактиви фірм Sigma (USA), Reanal (Чехія), "Вектор-Бест" (Росія).

Статистичну обробку результатів було проведено за допомогою комп'ютерного пакета програм Statistica v.5.5 з використанням непараметричного критерію Манна-Уїтні. Достовірною різними вважались результати при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Під час моделювання експериментального гепатиту смертність у контрольній групі тварин склала 30 %, у дослідній групі летальних випадків не спостерігалось.

Загальноприйнятим показником ступеня пошкодження паренхіми печінки є рівень активності амінотрансфераз у сироватці крові. Вивчення динаміки активності трансаміназ після введення ТХМ продемонструвало значне збільшення активностей як АСТ, так і АЛТ (рис. 1). Через 24 години після інтоксикації активність АСТ була вищою в 15 разів, а АЛТ – у 21 раз відносно інтактної групи. Через 48 годин високий рівень цитолізу залишався на тому ж рівні. На третю добу після індукції гепатиту спостерігалась тенденція до зниження активності АСТ і вірогідне зменшення активності АЛТ відносно 2-ої доби.

Попередня обробка ЕСФ викликала достовірну зміну амінотрансферазної активності в дослідній групі. Так, через 24 години після введення ТХМ активність АСТ знизилась у 2 та АЛТ в 1,5 рази відносно контрольної групи. Через 48 годин спостерігались аналогічні зміни, в дослідній групі активність АСТ зменшилась в 1,6 і АЛТ в 1,3 рази. На 3-тю добу ефект залишався активність АСТ була в 3,5, а АЛТ в 2,5 рази нижчою, ніж у контролі. Повної нормалізації амінотрансферазної активності не відбувалось (рис. 1).

Загальноприйнятим маркером розвитку оксидативного стресу є рівень ТБК-активних продуктів. Збільшення їх рівня в сироватці є свідченням активації перекисних реакцій та цитолітичних процесів у пошкоджених органах і тканинах. Вивчення динаміки накопичення ТБК-активних продуктів у сироватці контрольних та дослідних тварин показало, що через 24 години після введення ТХМ рівень МДА в сироватці контрольної групи перевищував інтактний у 1,8 раза, через 48 годин – в 2,2, а через 3 доби – в 1,7 рази (рис. 2). Спостерігались достовірні відмінності як між першою і другою, так і між 2-ю і 3-ю добами після інтоксикації, що, вірогідно, є свідченням максимальної інтенсивності вільнорадикальних процесів через 48 годин після введення ССІ₄.

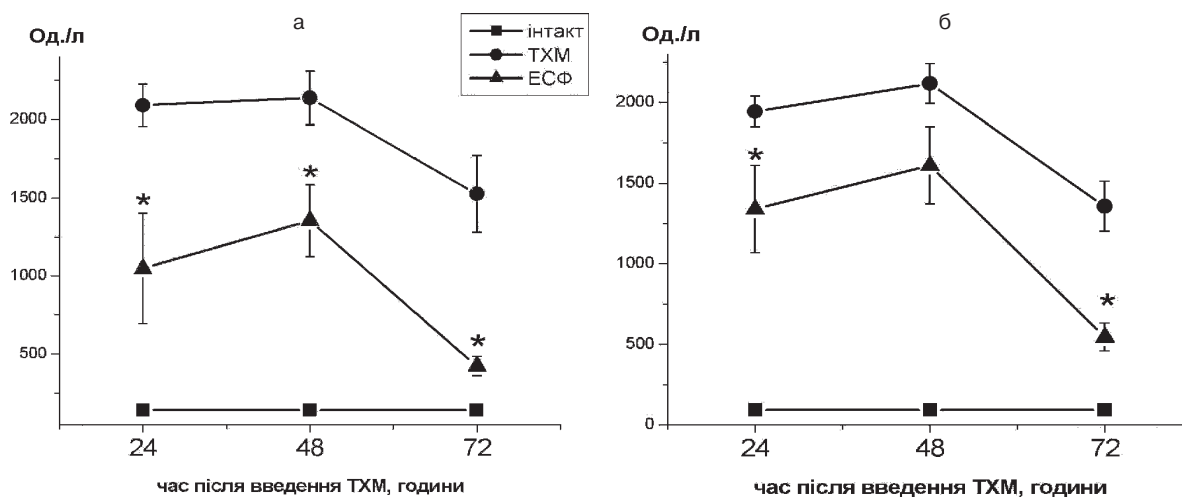


Рис. 1. Динаміка активностей АСТ (а) і АЛТ (б) через 24, 48 і 72 години після введення ТХМ та в умовах попередньої обробки ЕСФ.

Примітка. * – достовірна зміна відносно контрольної групи, $p < 0,05$.

Попереднє введення тваринам цитозолу фетальних тканин людини зменшувало вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові в 1,4 раза в першу та в 1,6 раза на другу добу порівняно з контрольною групою. Через 72 години після інтоксикації ефект попередньої обробки ЕСФ нівелювався і рівень МДА не відрізнявся від контролю (рис. 2). Відсутність ефекту попереднього введення ЕСФ через 72 години після інтоксикації, можливо, обумовлена коротким терміном дії та деградацією компонентів цитозолу фетальних тканин людини. Але, враховуючи ефективність попередньої обробки ЕСФ щодо амінотрансферазної активності, можна припустити, що підвищення інтенсивності ПОЛ і гемоліз еритроцитів після отруєння роблять внесок у збільшення рівня ТБК-активних продуктів [9].

Для встановлення механізмів зменшення ступеня цитолізу та інтенсивності ПОЛ у клі-

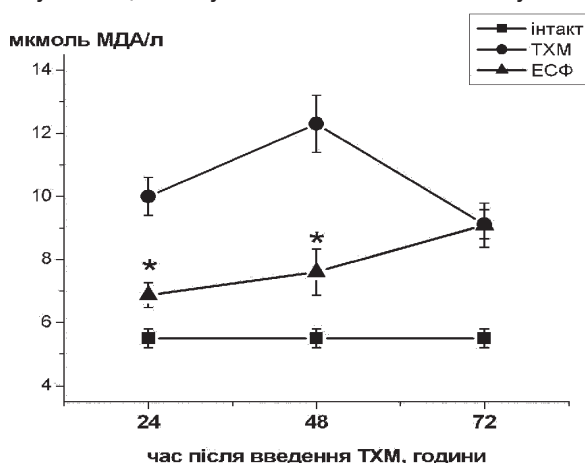


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів в сироватці крові через 24, 48 і 72 години після отруєння та в умовах попередньої обробки ЕСФ.

Примітка. * – достовірна зміна відносно контрольної групи, $p < 0,05$.

тинах печінки було досліджено як неферментативну ланку вільнорадикальних процесів у печінці – інтенсивність індукованого ПОЛ, так і ферментативну – каталазну активність після введення ТХМ.

Гостра інтоксикація ТХМ призводила до підвищення інтенсивності вільнорадикальних процесів у печінці щурів (табл. 1). Через 72 години після введення CCl_4 спостерігалось вірогідне збільшення інтенсивності індукованого ПОЛ в гомогенаті печінки в 1,3 раза порівняно з інтактною групою. В той же час каталазна активність була знижена в 1,9 раза. Введення ЕСФ викликало зменшення швидкості накопичення ТБК-активних продуктів у 3,6 раза відносно контрольної групи. Каталазна активність повністю нормалізувалась і була в 2,3 раза вищою за контроль.

Раніше нами було показано [5], що попередня обробка тварин ЕСФ за 72 години до гострої інтоксикації ТХМ не має впливу на амінотрансферазну активність і лише в першу добу після отруєння знижує рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові. Результати даної роботи показали, що скорочення терміну попередньої обробки до 24 годин призводить до зниження амінотрансферазної активності на усіх етапах експерименту, пролонгування дії ЕСФ відносно вмісту ТБК-активних продуктів в сироватці, а також нормалізації каталазної активності та інтенсивності індукованого ПОЛ в печінці інтоксикованих щурів.

Зниження амінотрансферазної активності в сироватці крові дослідної групи є свідченням зменшення ступеня пошкодження паренхіми печінки. Відомо, що при введенні ТХМ спостерігається некротична загибель клітин, тобто порушення цілісності плазматичних і внутріш-

Таблиця 1 – Каталазна активність та інтенсивність ПОЛ в печінці контрольних та дослідних тварин

Показник	Інтактна група	Контрольна група ТХМ	Дослідна група ТХМ+ЕСФ
Каталазна активність, мкмоль Н ₂ О ₂ /мг білка за 1 хв	121,04 ± 14,7	62,78 ± 8,4*	146,94 ± 26,6**
Інтенсивність ПОЛ, пмоль МДА/мг білка за 1 хв	27,2 ± 2,6	36,5 ± 3,1*	10,25 ± 2,3**

Примітка. * – p < 0,05 відносно інтактної групи; ** – p < 0,05 відносно контрольної групи.

ньюклітинних мембран гепатоцитів, наслідком чого є вихід трансаміназ до крові. Крім того, утворення активних метаболітів ССl₄ сприяє накопиченню у клітинах печінки вільних радикалів, що мають високу реакційну здатність і роблять значний внесок у розвиток пошкодження. Руйнування клітин призводить до елімінації продуктів ПОЛ до крові, наслідком чого є підвищення рівня МДА в сироватці крові після інтоксикації ТХМ. Зниження вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові тварин дослідної групи через 24 і 48 годин після інтоксикації ТХМ, можливо, також є ознакою зменшення ступеня некротизації тканини печінки. Спираючись на викладене вище, можна припустити, що одним із механізмів превентивної дії ЕСФ є підготовка мембранних компонентів клітин печінки та їх органоїдів до екстремального впливу. На користь такого припущення можуть свідчити дані про збільшення антиокисної активності ліпідів після обробки тварин ЕСФ [5].

Активация перекисних процесів у печінці після інтоксикації ТХМ призводить до порушення окиснювально-відновного балансу в клітинах печінки, наслідком чого є підвищення інтенсивності ПОЛ і зниження каталазної активності в печінці. Порушення ферментативної ланки антиоксидантної системи може бути пов'язане як з пригніченням експресії мРНК і біосинтезу каталази, так і пошкодженням та деградацією існуючих молекул ферменту. Ефект нормалізації вільнорадикальних процесів та каталазної активності після введення ЕСФ, вірогідно, реалізується шляхом збереження нативності ферменту або індукції його синтезу de novo.

Відповідно до сучасних уявлень, основний вклад в інтенсивність вільнорадикальних процесів, розвиток імунної реакції, запалення

та регенерації після введення ТХМ вносять непаренхіматозні клітини печінки. Активовані клітини Купфера продукують велику кількість Н₂О₂, що є як джерелом вільних радикалів, так і індуктором утворення прозапальних цитокінів, зокрема, ТФРβ [6,8]. Показано, що інгібування клітин Купфера призводить до зниження ступеня пошкодження печінки при гострій інтоксикації ТХМ [10]. Можна припустити, що ЕСФ виявляє модулюючу дію на продукцію білків гострої фази та розвиток запальної реакції шляхом зміни цитокінового профілю в пошкодженій печінці або на етапі підготовки до екстремального впливу. Деякі дослідження щодо використання при патології печінки як окремих цитокінів і ростових факторів, так і фетальних препаратів демонструють, що їхня дія опосередкована як універсальними месенджерними молекулами (NO, Н₂О₂), так і внутрішньоклітинними факторами транскрипції (NFκB, AP-1) [6-8].

Враховуючи викладене вище, можна припустити, що превентивна дія ЕСФ обумовлена його впливом на генетичний і білоксинтезуючий апарати клітин печінки шляхом впливу на внутрішньоклітинні регуляторні каскади.

ВИСНОВКИ. 1. Попередня обробка тварин ЕСФ за добу до гострої інтоксикації тетрахлорметаном має часткову превентивну дію стосовно амінотрансферазної активності та вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові.

2. Попереднє введення ЕСФ нормалізує каталазну активність та швидкість накопичення ТБК-активних продуктів у печінці щурів через 3 доби після інтоксикації.

3. Отримані результати є свідченням перспективності використання ЕСФ при гострій інтоксикації ТХМ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.Н. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252с.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб.

дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

4. Костюк В.А. Роль ковалентного связывания и ПОЛ в повреждении печени четырехлористым углеродом // Биохимия. – 1991. – 56, № 10. – С. 1878-1885.

5. Петренко А.Ю., Оченашко О.В. Влияние препаратов эмбриональных тканей человека на интенсивность ПОЛ при остром токсическом гепатите у

крыс // Проблемы криобиологии. – 2001. – № 2. – С. 66-71.

6. Fausto N. Liver regeneration // Hepatology. – 2000. – **32**(1). – P.19-31.

7. Gorczyński R.M., Bessler W.G., Chung S. et al. A fetal sheep liver extract reverses age-related increments in spontaneous and induced cytokine production by indirect environmental effects // Immunology Letters. – 1998. – **60**, № 2-3. – P. 157-164.

8. Kaplowitz M.D. Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury // Semin Liver Dis. – 2002. – P. 137-144.

9. Moritz R.P., Pankow D. Effect of carbon tetrachloride and chloroform on hematologic parameters in rats // Folia Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol. Blutforsch. – 1989. – **116**(2). – P. 283-287.

10. Muriel P., Alba N., Perez-Alvarez V.M. et al. Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxi-

dation and damage induced by carbon tetrachloride // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. – 2001. – **130**(2) – P. 219-226.

11. Teruel M., Smith R., Catalano R. Growth factors and embryo development // Biocell. – 2000. – **24**(2). – P. 107-122.

12. Tresco P.A., Biran R., Noble M.D. Cellular transplants as sources for therapeutic agents // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2000. – **42**, № 1-2. – P. 3-27.

13. Wu B., Wang C.W., Xu J.R., Zhu J.Q. Effect of epidermal growth factor on cultured rat hepatocytes poisoned by CCl₄ // Zhongguo Yao Li Xue Bao. – 1997. – **18**(2). – 176-179.

14. Zou Y., Gong D.Z., Mei M.H., Zhang W.Q. Protective effect of hepatocyte growth factor on hepatocyte poisoning by carbon tetrachloride and related gene expression in rats // Sheng Li Xue Bao. – 2000. – **52**(1). – P.59-63.

ДЕЙСТВИЕ ЭМБРИОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ТЕЧЕНИЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ У КРЫС

А.Ю. Петренко, Д.В. Черкашина

ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРИОБИОЛОГИИ И КРИОМЕДИЦИНЫ НАН УКРАИНЫ

Резюме

Исследовано влияние предварительной обработки крыс эмбриоспецифическими факторами (ЭСФ), полученными из эмбрионов человека 9-12 недель гестации, на течение острой интоксикации, вызванной однократным введением тетрахлорметана (ТХМ). Показано частичное превентивное действие ЭСФ на аминотрансферазную активность сыворотки крови через 24,48 и 72 часа после отравления. Позитивный эффект предобработки ЭСФ в отношении содержания ТБК-активных продуктов в сыворотке интоксичированных животных наблюдался через 24 и 48 часов, на третьи сутки – нивелировался. В то же время каталазная активность и скорость накопления ТБК-активных продуктов в печени полностью нормализовались. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения ЭСФ при острой интоксикации ТХМ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эмбриоспецифические факторы, острая интоксикация, тетрахлорметан, аминотрансферазы, ТБК-активные продукты, каталазная активность.

THE INFLUENCE OF EMBRYOSPECIFIC FACTORS ON THE ACUTE TETRACHLORMETHANE INTOXICATION DEVELOPMENT IN RATS

A.Yu. Petrenko, D.V. Cherkashina

INSTITUTE OF PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE

Summary

The influence of pretreatment of rats with embryospecific factors (ESF), obtained from human embryos of 9-12 week hestation, on the acute CCl₄-intoxication development, caused by single administration of tetrachlormethane, has been investigated. Particular preventive action on serum aminotransferase activity in 24, 48 and 72 hours after injury was shown. Positive effect of ESF pretreatment on serum TBA-active product level in 24 and 48 hours was observed. This influence was absent on the third day after intoxication. At the same time, catalase activity and TBA-active product accumulation rate were completely normalized. Obtained results testify that ESF application is perspective for acute CCl₄-intoxication treatment.

KEY WORDS: embryospecific factors, acute intoxication, tetrachlormethane, aminotransferases, TBA-active products, catalase activity.

Отримано 06.03.2003 р.

Адреса для листування: О.Ю. Петренко, відділ криобіохімії, Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, 61015, Україна.

ЗМІНИ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВУ ХВОРОБУ ІЗ СУПРОВІДНИМ УРАЖЕННЯМ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ

Г.В. Лихацька

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Досліджено динаміку клініко-лабораторних показників, стану перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидної системи (АОС) у хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки (ВХДПК) із супровідним ураженням гепатобіліарної системи під впливом неоселену. Дослідження лабораторних показників (білірубину, АсАТ, АлАТ), стану ПОЛ проводили за даними малонового діальдегіду, АОС – за активністю супероксиддисмутази.

Під спостереженням перебувало 60 хворих на ВХДПК у фазі загострення із супровідним ураженням гепатобіліарної системи. Їх поділили на дві групи: 1-ша група (30 пацієнтів) одержувала загальноприйнятну антихелікобактерну терапію; 2-га (30 пацієнтів) – аналогічне лікування з неоселеном по 1 столовій ложці 3 рази на день протягом трьох тижнів. Результати досліджень показали, що комплексна терапія із застосуванням неоселену зумовлює кращий терапевтичний ефект за рахунок його антиоксидних властивостей.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: виразкова хвороба, неоселен, гепатобіліарна система, перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Захворювання системи травлення відносять до найбільш поширених у нашій країні та світі. Виразкова хвороба займає важливе місце в структурі захворюваності населення. Розповсюдженість її досить висока. В Україні вона складає 7-8 випадків на 1000 населення. В останні десятиліття спостерігаються часті поєднання різних захворювань шлунково-кишкового тракту. Зміни функціонального стану печінки, жовчного міхура у хворих на ВХДПК, очевидно, зумовлені єдністю нейрогуморальної регуляції та спільністю етіопатогенезу.

При виразковій хворобі відмічаються зміни клініко-лабораторних показників, ПОЛ, АОС, корекція цих порушень допомагає полегшити перебіг, попередити прогресування захворювання. У зв'язку з цим, важливим є вивчення засобів, що застосовуються для лікування ВХДПК, і їх впливу на клініко-лабораторні показники та інтенсивність процесів ПОЛ. Вплив неоселену на клініко-лабораторні показники, ПОЛ і АОС у хворих на ВХДПК із супровідним ураженням гепатобіліарної системи залишається невивченим.

© Г.В. Лихацька, 2003.

Аналіз літературних даних останніх років показує, що одним із важливих механізмів розвитку ВХДПК, за сучасними уявленнями, є ВРОЛ, оскільки кінцевою ланкою патогенезу даного захворювання є антиоксидна недостатність, яка здійснюється через деструкцію клітинних мембран слизової оболонки гастродуоденальної зони з розвитком ульцерогенезу [1, 2]. Дана точка зору поклала початок активній розробці цитопротективного напрямку в лікуванні ВХДПК з використанням антиоксидантів [3, 4, 5]. А.А. Давидов та співавт. [3] встановили, що у хворих із різними хронічними захворюваннями печінки спостерігається підвищений вміст МДА у плазмі крові й еритроцитах. Інші дані літератури [7, 8, 9] свідчать про те, що при всіх формах ураження печінки спостерігаються зміни стану АОС, підвищується активність СОД і глутатіонредуктази. Низка авторів вважає, що важливу роль у регуляції процесів ПОЛ при хронічних ураженнях печінки відіграє білірубін, якому відводять функції ендogenous антиоксиданта [6].

Отже, аналіз даних літератури показав, що інтенсифікація ПОЛ є одним із механізмів

пошкодження і розпаду клітин печінки внаслідок розвитку системного оксидного стресу, який виникає в результаті дисбалансу між гіперпродукцією активних форм кисню і недостатністю АОС.

Таким чином, дослідження динаміки основних показників оксидного та антиоксидного статусу забезпечили б високу інформативність у розв'язанні питань щодо прогностичних критеріїв і впровадженні схем медикаментозної корекції з патогенетичним обґрунтуванням їх доцільності за умов ураження гепатобіліарної системи на тлі ВХДПК.

Метою роботи було вивчити вплив неоселену на клініко-лабораторні показники, ПОЛ, АОС у хворих на ВХДПК із супровідним ураженням гепатобіліарної системи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під спостереженням знаходилось 60 хворих на ВХДПК із супровідним ураженням гепатобіліарної системи віком від 20 до 60 років, з них 38 чоловіків та 22 жінки. Критерієм включення пацієнтів у дослідження була наявність ендоскопічної верифікації ВХДПК. Хворих поділили на дві групи. До 1-ї ввійшли пацієнти, які одержували загальноприйнятту антихелікобактерну терапію (30 осіб), до 2-ї (30) – хворі, які отримували аналогічне лікування з неоселеном по 1 столовій ложці 3 рази на день протягом трьох тижнів.

Визначали клініко-лабораторні показники (АсАТ, АлАТ, білірубін). Дослідження стану ПОЛ (за вмістом МДА як одного з прикінцевих продуктів ліпопероксидації) проводили за методом L. Placer at al. [10, 11], стану протирадикальних захисних систем – за активністю СОД [4].

Вивчали вплив неоселену на клініко-лабораторні показники, активність ПОЛ та АОС. Визначення вищеперелічених показників проводили при госпіталізації хворих у стаціонар і в кінці тритижневого курсу лікування, середня тривалість якого становила (20,35±2,48) ліжко-днів. Статистичній обробці підлягали результати одних і тих самих хворих, тобто кількість їх до і після лікування була однаковою.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Больовий синдром виявлено у 56,1 % пацієнтів, диспепсичний – у 73,5 % хворих. Це свідчить про порушення функції печінки на тлі ВХДПК.

Аналіз показників функціонального стану печінки, які визначали за загальноприйнятими методиками, показав, що у хворих на ВХДПК з ураженням печінки підвищувався, порівняно з контролем, рівень загального білірубину в 1,7 раза ($p < 0,05$), АсАТ та АлАТ – в 1,8 та 2,0 рази відповідно ($p < 0,05$). При ВХДПК відбувалися активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і пригнічення АОС (табл. 1). Особливо вираженими були порушення в концентрації кінцевих продуктів вільнорадикального окиснення. Вони полягали у достовірному підвищенні рівнів МДА з одночасним зниженням активності СОД.

Аналіз результатів лікування двох груп хворих показав, що у пацієнтів 2-ї групи швидше на 4-5 днів зникли клінічні ознаки (біль в епігастральній ділянці й правому підребер'ї), нормалізувалися біохімічні показники (білірубін). Терапія неоселеном істотно вплинула на біохімічні показники у хворих на ВХДПК. Одночасно із значним покращанням клінічних проявів хвороби спостерігалось зниження концентрації загального білірубину з (21,94±0,97) до (15,19±0,83) мкмоль/л ($p < 0,05$), активності АсАТ – з (0,70±0,02) до (0,48±0,02) ммоль/(л-год). Аналогічну динаміку мала і активність АлАТ, яка після лікування складала (0,68±0,01) проти (1,06±0,01) ммоль/(л-год) ($p < 0,05$). У хворих групи базової терапії відмічено зниження концентрації АсАТ з (0,69±0,02) до (0,65±0,04) ммоль/(л-год) ($p > 0,05$), а активність АлАТ становила (1,03±0,03) проти (1,01±0,02) ммоль/(л-год), що також було недостовірним.

Динаміку показників ПОЛ та АОС двох груп представлено в таблиці 1.

Аналіз динаміки показників ПОЛ та АОС (табл. 1) показав, що у хворих 1-ї групи (після призначення базової терапії) спостерігалось зменшення рівня МДА та підвищення активності СОД, проте жоден з них не повернувся

Таблиця 1 – Динаміка показників ПОЛ та АОС двох груп (M±m)

Показники крові	Контроль, n=20	1-ша група, n=30		p	2-га група, n=30		p ₁
		До лікування	Після лікування		До лікування	Після лікування	
МДА, мкмоль/л	2,80±0,05	3,46±0,06*	3,36±0,05	>0,05	3,88±0,06	2,84±0,05	<0,05
СОД, % блокув.	62,15±1,85	47,42±0,54*	48,87±0,52	>0,05	48,23±0,54	58,86±0,60	<0,05

Примітка. p – достовірність відмінності між значеннями показників до і після лікування у хворих, що отримували базову терапію (1-ша група);

p₁ – достовірність відмінності між значеннями показників до і після лікування у хворих, що отримували неоселену на тлі базової терапії (2-га група);

* – показник до лікування, який достовірно відрізняється від контрольних значень.

до норми ($p > 0,05$). А у хворих 2-ї групи (які одержували неоселен на тлі базової терапії) відмічалось значне пригнічення процесів ліпопероксидації, на що вказували зменшення вмісту МДА та виражена активація активності СОД ($p < 0,05$).

Таким чином, включення неоселену в комплексну терапію хворих на ВХДПК призводить до швидкої клінічної ремісії, нормалізації біохімічних показників крові, стану ПОЛ (зменшення вмісту МДА) та АОС (підвищення рівня СОД).

ВИСНОВКИ. 1. Традиційне лікування хворих на ВХ із супровідним ураженням гепатобілярної системи не призводить до усунення дис-

балансу між процесами ПОЛ та станом захисних протирадикальних систем.

2. Застосування на тлі базисної терапії неоселену зумовлює нормалізацію клініко-лабораторних показників, стану ПОЛ та АОС.

3. З метою корекції порушень ПОЛ та АОС у хворих на ВХДПК із супровідним ураженням гепатобілярної системи необхідним є застосування на тлі базисної терапії неоселену, який володіє антиоксидними та імуномодуючими властивостями.

4. Динаміку ПОЛ та АОС доцільно використовувати для експрес-оцінки важкості перебігу патологічного процесу й ефективності різних методів лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамович О.О., Грабовська О.І., Терлецька О.І. Процеси ліпідної пероксидації при хронічних ураженнях печінки // Мед. хімія. – 2000. – 2, № 1. – С. 5-7.
2. Буеверов А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2002. – 12, № 4. – С. 21-26.
3. Давыдов А.А., Жидовиков Г.И., Адельшина Г.А. Взаимосвязь интенсивности свободнорадикального окисления с уровнем сывороточного билирубина при поражениях гепатобилиарной системы // Клинич. лаб. диагностика. – 1998. – № 5. – С. 11-13.
4. Дубинина Е.Е., Сальникова А.А. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. – 1998. – № 3. – С. 30-33.
5. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., Дахер Дж.М. Патогенетические механизмы липопероксидации и антирадикальной защиты в развитии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Сучасна гастроентерол. – 2000. – № 1(7). – С.49-51.
6. Маев И.В., Нефедова Ю.В., Вьюнова Е.С. и

др. Использование иммунокоррекции в лечении хронических эрозий желудка. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1998. – № 4. – С. 33-38.

7. Нейко Є.М., Шевчук І.М. Клініко-патогенетична ефективність антиоксидантів при хронічному гепатиті. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 212 с.

8. Рак О.Л. Застосування антиоксидантів для реабілітаційно-етапного лікування ускладненої виразкової хвороби у хворих різного віку // Буковин. мед. вісн. – 1997. – 1, № 1. – С. 60-62.

9. Талмач Д.В., Чубенко С.С., Жданюк Ю.М. Коррекция нарушений перекисного окисления липидов у больных язвенной болезнью // Врач. дело. – 1997. – № 2. – С. 86-87.

10. Тимочко М.Ф., Шафова Т.І., Кузик Ю.І. та ін. Особливості змін ліпідної пероксидації при патології печінки // Клініч. фізіологія і біохімія. – 1998. – № 3, 4. – С. 46-49.

11. Placer L. Lipoperosidation system in Biologische Material. 2. Mitt Bestimmung der Lipoperosidation in sangetier organismus // Die Nahrung. – 1986. – 126, № 6. – S. 679-684.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ С СОПУТСТВУЮЩИМ ПОРАЖЕНИЕМ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Г.В. Лихацкая

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Исследовано динамику клинико-лабораторных показателей, состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидной системы защиты (АОСЗ) у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) из сопутствующим поражением гепатобилиарной системы под влиянием

неоселена. Исследование лабораторных показателей (билирубина, АсАТ, АлАТ), состояния ПОЛ проводили по данным малонового диальдегида, АОСЗ – по активности супероксиддисмутазы.

Под наблюдением находилось 60 больных ЯБДПК в фазе обострения с сопутствующим поражением гепатобилиарной системы. Их разделили на две группы: 1-я группа (30 пациентов) получала обще-принятую антихеликобактерную терапию, 2-я (30) – аналогичное лечение с неоселеном по 1 столовой ложке 3 раза в день в течение трёх недель. Результаты исследований показали, что комплексная терапия с применением неоселена обуславливает лучший терапевтический эффект за счёт его антиоксидных свойств.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: язвенная болезнь, неоселен, гепатобилиарная система, перекисное окисление липидов.

CHANGES OF CLINICO-LABORATORY INDICES IN PATIENTS WITH ULCEROUS DISEASE WITH ACOMPANIED LESIONS OF THE HEPATOBILIARY SYSTEM AND THEIR CORRECTION

G.V. Lykhatska

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY. I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The investigations were performed of clinico-laboratory indices of the state of lipid peroxidation and antioxidant protection system in patients with ulcerous diseases and with concomitant lesions of the hepatobiliary system under the influence of neoselen.

The laboratory indices (bilirubin, AsAT, AlAT) were assessed. 60 patients with UDDB stage and with accompanied lesions of the hepatobiliary system were observed. The patients were divided in the two groups: the first group (30 patients) received conventional antihelikobacterial therapy, the second one (30 patients) received the same treatment and neoselen, 1 spoon 3 times a day during three weeks.

The results of the research revealed that complex therapy including neoselen to result in better therapeutic effect because of its antioxidant features.

KEY WORDS: ulcerous disease, neoselenium, hepatobiliary system, lipid peroxidation.

Отримано 27.05.2003 р.

Адреса для листування: Г.В. Лихацька, Тернопільська державна медична академія ім. І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ РОДІОЛИ РІДКОГО НА СТАН ОКСИДНОЇ ТА АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ І КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

Н.В. Давидова

БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Вивчали ефективність застосування екстракту родіоли рідкого (ЕРР) за умов експериментального токсичного гепатиту в щурів. Встановлено, що інтоксикація тетрахлорметаном супроводжувалась посиленням вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, зниженням вмісту відновленого глутатіону, зміною активності антиоксидних ферментів крові та печінки тварин. Пероральне введення їм ЕРР на фоні токсичного гепатиту сприяло швидкій нормалізації досліджуваних показників.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: токсичний гепатит, екстракт родіоли рідкий, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидна система.

ВСТУП. Гострі отруєння хлорованими вуглеводнями є важкими патологічними станами з високою госпітальною летальністю [12]. Окиснення ксенобіотиків цитохром-Р-450-залежною монооксигеназною системою печінки супроводжується утворенням реакційноздатних проміжних сполук та активних форм кисню (АФК) [11]. Узгоджене функціонування антиоксидної системи (АОС) здійснює регуляцію окисно-відновних процесів у тканинах, визначає розвиток адаптаційних та компенсаторних механізмів [1, 16]. В умовах погіршення екологічної ситуації АОС внаслідок виснаження не здатна забезпечити належний захист від АФК. Тому подальший пошук та впровадження нових лікарських препаратів з антиоксидними властивостями є актуальною проблемою. Значний інтерес у цьому відношенні викликають препарати лікарських рослин, котрі за надзвичайно низької токсичності та мінімальної кількості ускладнень у терапевтичних дозах виявляють численні фармакологічні ефекти. Родіола рожева містить велику кількість природних антиоксидантів, зокрема флавоноїди (родіолін, родіозин, кемпферол), фенольні сполуки (салідрозид, тирозол), стерини, монотерпени тощо [7]. Доведено антиоксидну активність екстракту родіоли та окремих діючих речовин, що виділені з нього, за умов *in vitro* [14].

© Н.В. Давидова, 2003.

Метою даної роботи було вивчити стан оксидної та антиоксидної систем крові й печінки щурів при експериментальному токсичному гепатиті та введенні екстракту родіоли рідкого.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на білих безпородних щурах масою (150±10) г, яких утримували в умовах віварію з вільним доступом до їжі та води. Експериментальний токсичний гепатит (ЕТГ) моделювали шляхом дворазового (через день) внутрішньо-шлункового введення тетрахлорметану (CCl₄) у вигляді 50 % олійного розчину з розрахунку 0,25 мл/100 г маси тіла. Офіційний екстракт родіоли рідкий (ЕРР) вводили внутрішньо-шлунково з розрахунку 0,01 мл/кг маси тіла щоденно після останнього введення CCl₄. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом на 5-ту, 7-му та 10-ту доби введення екстракту. Кров стабілізували шляхом додавання ЕДТА з розрахунку 1 мг/мл. 5 % гомогенат печінки готували на льоду з використанням трис-НСІ буфера (50 мМ, рН=7,4). У пост'ядерному супернатанті гомогенату печінки визначали вміст малонового діальдегіду (МД) [13], відновленого глутатіону (ВГ) [15], активність каталази (К) [6], супероксиддисмутази (СОД) [3]. У плазмі крові – вміст модифікованих білків [8] та церулоплазміну (ЦП) [5]. Результати оброблено статистично з використанням

t-критерію Стьюдента та представлено в таблицях 1 і 2.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Важливим механізмом ушкоджувальної дії тетрахлорметану на печінку є посилення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, що призводить до порушення структурної цілісності мембран гепатоцитів [3, 12]. Про рівень ПОЛ можна непрямим шляхом судити за вмістом одного з кінцевих продуктів – малонового діальдегіду. Нами встановлено, що ЕТГ супроводжується зростанням вмісту МД в печінці щурів на 28, 44 та 46 % вище показників контролю на 5-ту, 7-му та 10-ту доби відповідно. Вміст МД в еритроцитах перевищував контроль на 24 % на 5-ту та 7-му доби.

АФК, окрім посилення ПОЛ, сприяють окиснювальній модифікації як розчинних, так і мембраноз'язаних білків, що призводить до втрати їх функціональної активності [4]. Нами встановлено зростання вмісту окисномодифікованих білків (ОМБ) у плазмі крові щурів при отруєнні CCl_4 на 12, 21 та 17 % вище показників контролю на 5-ту, 7-му та 10-ту доби відповідно.

Інтенсивність перебігу вільнорадикальних реакцій у тканинах значною мірою визначається активністю функціонування систем антиоксидного захисту [1, 16]. За умов інтоксикації CCl_4 нами встановлено зростання вмісту ВГ в

печінці щурів: на 66 % – на 5-ту добу та на 14 % – на 7-му добу експерименту. На 10-ту добу його вміст був уже на 16 % нижчим рівня тварин контрольної групи, що свідчить про виснаження АОС.

СОД – ключовий фермент АОС – знешкоджує $O_2^{\cdot-}$ з утворенням пероксиду водню, який розкладається нерадикальним шляхом під дією каталази та глутатіонпероксидази [10]. Нами встановлено, що ЕТГ супроводжується зниженням активності СОД у печінці щурів на 55, 18 % та 10 % на 5-ту, 7-му і 10-ту доби експерименту. Це, можливо, пов'язано з конформаційними змінами молекули ферменту під дією токсичних метаболітів CCl_4 . Імовірно й зниження активності СОД внаслідок незворотного відновлення міді в активному центрі або окиснення в ньому тіолових функціональних груп [2]. Відмічено й різке зменшення активності К у печінці щурів на 82, 42 та 33 % нижче рівня контролю на 5-ту, 7-му та 10-ту доби експерименту. Зниження активності, можливо, пов'язане з порушенням синтезу ферменту внаслідок пошкодження токсинном рибосом ендоплазматичного ретикулула.

ЦП, мідьвмісний сироватковий антиоксидант, за допомогою пари іонів Cu^{2+} здійснює відновлення супероксиду аніона до H_2O без утворення пероксиду водню [9]. Встановлено, що отруєння CCl_4 призвело до збільшення

Таблиця 1 – Вплив екстракту родіоли рідкого на стан оксидної системи печінки та крові щурів за умов експериментального токсичного гепатиту ($M \pm m$; $n=4$)

Умови досліджу		Досліджувані показники		
		МД в еритроц., нмоль/мл еритроц.	МД в печ., мкмоль/г тканини	ОМБ у плазмі крові, ммоль/мг білка
Контроль		11,24±0,68	38,98±2,56	59,53±1,43
5-та доба	Гепатит	13,99±0,55*	49,96±0,56*	66,55±1,80*
	Гепатит+родіола	14,00±0,85*	45,33±0,58*	64,43±1,23*
7-ма доба	Гепатит	13,94±0,72*	56,14±0,61*	71,09±1,12*
	Гепатит+родіола	12,48±0,71	45,33±3,13*	58,74±0,94
10-та доба	Гепатит	10,95±0,33	56,86±2,18*	69,74±1,87*
	Гепатит+родіола	10,27±0,36	40,88±2,10	57,29±2,03

Примітка. * – вірогідність відмінності показників контрольної та дослідних груп ($p \leq 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив екстракту родіоли рідкого на стан антиоксидної системи печінки та крові щурів за умов експериментального токсичного гепатиту ($M \pm m$; $n=4$)

Умови досліджу		Досліджувані показники			
		GSH, мкмоль/г тканини	ЦП, мг/л плазми	СОД, од/мг білка	Каталаза, мкмоль/хв·г тканини
Контроль		7,11±0,48	152,5±4,5	0,563±0,023	32,18±2,37
5-та доба	Гепатит	11,81±0,78*	183,1±1,3*	0,363±0,022*	17,67±2,97*
	Гепатит+родіола	8,26±0,38*	196,0±7,0*	0,354±0,021*	23,57±2,97*
7-ма доба	Гепатит	8,07±0,27*	205,4±20,1*	0,477±0,028*	22,69±2,40*
	Гепатит+родіола	7,09±0,51	162,9±8,9	0,565±0,054	19,41±2,57*
10-та доба	Гепатит	5,94±0,32*	201,4±7,2*	0,515±0,013*	24,18±1,30*
	Гепатит+родіола	6,81±0,09	159,5±9,8	0,523±0,052	29,34±2,04

Примітка. * – вірогідність відмінності показників контрольної та дослідних груп ($p \leq 0,05$).

вмісту ЦП у плазмі крові: на 20 % – на 5-ту добу, на 35 % – на 7-му добу та на 32 % – на 10-ту добу експерименту. Підвищення рівня ЦП пов'язане з компенсаторним зростанням його синтезу та порушенням розпаду в ушкодженій печінці.

Введення екстракту родіоли рідкого тваринам на фоні експериментального токсичного гепатиту призвело до нормалізації показників оксидної системи: вміст МД в еритроцитах та рівень модифікованих білків у плазмі крові вірогідно не відрізнялись від контролю вже на 7-му добу введення екстракту. Вміст МД у печінці щурів на 7-му добу введення екстракту перевищував контроль на 16 %, а на 10-ту добу

не відрізнявся від нього. За умов введення екстракту інтоксикованим тваринам на 7-му добу спостерігалась нормалізація вмісту GSH, активності СОД у печінці щурів, на 10-ту – активності К у печінці. На 5-ту добу введення екстракту вміст ЦП у плазмі крові щурів перевищував рівень контролю на 29 %, тоді як на 7-му та 10-ту доби не відрізнявся від нього.

ВИСНОВОК. Введення екстракту родіоли рідкого на фоні експериментального токсичного гепатиту сприяє нормалізації показників оксидно-антиоксидної системи печінки та крові щурів, що свідчить про виражені антиоксидні властивості препарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.І. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 3. – С. 24-29.
2. Гонский Я.И., Корда М.М., Клищ И.Н., Фира Л.С. Роль антиоксидантной системы в патогенезе токсического гепатита // Пат. физ. и эксперим. тер. – 1996. – № 2. – С. 43-45.
3. Дубинина Е.Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма // Успехи совр. биол. – 1989. – **108**, вып.1(4). – С. 3-18.
4. Дубініна О.Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків // Мед. хімія. – 2001. – **3**, № 2. – С. 5-12.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 290 с.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
7. Куркин В.А., Запесочная Г.Г. Химический состав и фармакологические свойства растений рода родиола (обзор) // Хим.-фарм. журн. – 1986. – № 10. – С. 1231-1244.
8. Мещишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буков. мед. вісн. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156-158.
9. Мжельская Т.И. Биологические функции церулоплазмينا и их дефицит при мутациях генов, регулирующих обмен меди и железа // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – **130**, № 8. – С. 124-133.
10. Салига Ю.Т., Снітинський В.В., Яремко Р.М. Супероксиддисмутаза – ключовий фермент антиоксидантної системи (огляд літератури) // Експерим. та клініч. фізіол. та біохім. – 1999. – № 3. – С. 7-16.
11. Силуянова С.Н., Андрианова Л.Е., Лесничук С.А. Печень. Обезвреживание токсических веществ // Вопр. биол. мед. и фарм. химии. – 2002. – № 3. – С. 50-56.
12. Скакун Н.П., Писько Г.Т., Мосейчук И.П. Поражение печени четыреххлористым углеродом: Обзорн. информ. – М.: НИИТЭХИМ, 1989. -106 с.
13. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 66-68.
14. Сторожок Н.М., Гуреева Н.В., Крысин А.П. и др. Антиоксидантные свойства аурыла (тирозола-С) // Хим.-фарм. журн. – 2002. – **36**, № 2. – С. 14-18.
15. Травина О.В. Руководство по биохимическим исследованиям. – М.: Медгиз, 1955. – 256 с.
16. Parris M. Kidd Glutathione: Systemic Protectant Against Oxidative and Free Radical Damage // Alt Med Rev. – 1997. – **2**, № 3. – P. 155-176.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА РОДИОЛЫ ЖИДКОГО НА СОСТОЯНИЕ ОКСИДНОЙ И АНТИОКСИДНОЙ СИСТЕМ ПЕЧЕНИ И КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Н.В. Давыдова

БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Изучали эффективность применения экстракта родиолы жидкого (ЭРЖ) при экспериментальном токсическом гепатите у крыс. Установлено, что интоксикация тетрахлорметаном сопровождалась усилением свободнорадикального окисления липидов и белков, снижением содержания восстановленного глутатиона, изменением активности антиоксидантных ферментов крови и печени животных. Пероральное введение им ЭРЖ на фоне токсического гепатита способствовало быстрой нормализации исследуемых показателей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: токсический гепатит, экстракт родиолы жидкий, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

EFFECT OF RHODIOLA ROSEA LIQUID EXTRACT ON THE STATE OF OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEM OF RAT LIVER AND BLOOD UNDER CONDITION OF EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS

N.V. Davidova

BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The efficacy of using the *Rhodiola rosea* liquid extract (RRE) under condition of experimental toxic hepatitis in rats was investigated. It was established that tetrachloromethane intoxication was accompanied by increase of free-radical lipid peroxidation and oxidative modification of proteins, decrease of reduced glutathione, change of antioxidative enzymes activity in rats liver and blood. Oral introduction of RRE promoted rapid normalization of the investigated indices.

KEY WORDS: toxic hepatitis, *Rhodiola rosea* liquid extract, lipid peroxidation, antioxidative system.

Отримано 31.03.2003 р.

Адреса для листування: Н.В. Давыдова, вул. Ватутіна, 4, кв. 7, Чернівці, 58000, Україна.

ЗМІНИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ

В.Г. Лизогуб, О.М. Бондарчук, Т.С. Брюзгіна
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

У статті наводяться результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу еритроцитів у хворих на ішемічну хворобу серця на тлі хронічного панкреатиту.

Встановлено, що в таких пацієнтів відбувається зростання насиченості жирнокислотного спектра за рахунок пальмітинової кислоти. Рівень поліненасичених жирних кислот не змінюється, незважаючи на зменшення вмісту арахідонової кислоти, що, мабуть, зумовлено збільшенням рівня ейкозатрієнової кислоти. Також у статті проводиться порівняльний аналіз жирнокислотного спектра між основною групою, а також групами пацієнтів з ішемічною хворобою серця без хронічного панкреатиту та хронічним панкреатитом без ішемічної хвороби серця.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: насичені та ненасичені жирні кислоти, еритроцит, ішемічна хвороба серця, хронічний панкреатит.

ВСТУП. Проблему супровідної патології хронічного панкреатиту (ХП) та ішемічної хвороби серця (ІХС) на сьогодні вивчено ще недостатньо [4, 5], хоча негативний взаємозв'язок між даними патологіями виявлено давно [2]. Проте патогенетичні механізми такого впливу досі залишаються невстановленими.

Останнім часом досить велика увага приділяється змінам структурно-функціонального стану червонокрівців у розвитку мікроциркуляторних змін при патології внутрішніх органів [7], у тому числі при ХП [10]. Зокрема встановлено, що при ХП зменшуються здатність червоних клітин крові до деформації та стійкість до перекисного окиснення, а також збільшення відносної в'язкості еритроцитарної суспензії, що зумовлює гемореологічні розлади при загостренні даного захворювання [8]. Проте механізми, що викликають вказані зміни червонокрівців, ще вивчено недостатньо. При дослідженні проблеми ІХС звертається увага на зміни структурної організації мембрани еритроцита, зокрема її жирно-кислотного спектра [6]. Встановлено, що надлишкове вбудовування в клітинні мембрани жирних кислот та їх окиснення призводять до порушення ліпідного бішару, порушують транспортні системи клітини, міжклітинний обмін та сприяють погіршенню зв'язку між внутрішньо- та зовнішньосудинним пулами позаклітинної

© В.Г. Лизогуб – д.мед.н., проф., О.М. Бондарчук, Т.С. Брюзгіна – к.мед.н., 2003.

рідини [9]. При збільшенні в мембрані еритроцита вмісту поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) зменшуються пероксидна стійкість клітини, стійкість до гемолізу, відбувається пригнічення Mg-, Na-, K-АТФ-ази [12]. А зниження антиоксидного статусу організму є важливішою причиною розвитку інфаркту міокарда, ніж гіперхолестеринемія [14]. Враховуючи певну подібність етіологічних факторів ІХС та ХП (стрес, порушення харчування, гіперліпемія), а також патогенетичних механізмів (підсилення перекисного окиснення ліпідів, депресія антиоксидної системи), вирішено дослідити жирнокислотний спектр червонокрівців у хворих на ХП.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В умовах стаціонарного відділення обстежено 22 хворих на ішемічну хворобу серця із супровідним хронічним панкреатитом (основна група), 12 хворих на ішемічну хворобу серця (1-ша контрольна група) та 10 хворих на хронічний панкреатит (2-га контрольна контрольна група), а також 10 здорових добровольців. Вказані групи зіставлено між собою за основними показниками. У комплекс обстеження, окрім загальноклінічних, входили ультрасонографія серця та органів живота, добове моніторування серцевого ритму за методом Холтера, велоергометрія, копрологічне дослідження, визначення рівня діастази. Об'єктом досліджень були червонокрівці крові хворих усіх порівнюваних

груп. Забір матеріалу здійснювали вранці натщесерце при госпіталізації хворого в клініку до початку лікування в літній період року.

Підготовку біологічного матеріалу, отриманого в умовах клініки для виділення ліпідів, та газохроматографічний аналіз проводили за відомою методикою [3]. У спектрі жирних кислот ліпідів було ідентифіковано 8 найбільш інформативних кислот: насичені – С14:0 міристинова, С16:0 пальмітинова, С18:0 стеаринова; мононенасичена – С18:1 олеїнова; ПНЖК – С18:2 лінолева, С18:3 ліноленова, С20:3 ейкозатрієнова, С20:4 арахідонова. Піки жирних кислот ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання піків стандартних жирних кислот. Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів проводили методом нормування площ шляхом вимірювання площ піків метилових похідних жирних кислот та визначення їх складу у відсотках.

Визначали суму насичених, ненасичених (НЖК) та поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного спектра ліпідів еритроцитів у хворих на ІХС та ХП наведено в таблиці 1.

З цих даних випливає, що у хворих основної групи, на відміну від групи здорових осіб, має місце достовірне підвищення насиченості ліпідного комплексу еритроцитів, що збільшує ригідність мембрани еритроцита та, відповідно, зменшує його здатність до деформації.

Причому такі зміни співвідношення насичених та ненасичених жирних кислот у ліпідах основної групи зумовлені достовірним збільшенням вмісту пальмітинової жирної кислоти, що може свідчити про активацію процесів

ліпідної пероксидації та утворення лізоформ лецитину як результат процесу перекисного окиснення ліпідів.

Вірогідне зниження вмісту стеаринової жирної кислоти, порівняно з контролем, не вплинуло на рівень насиченості ліпідного комплексу еритроцитів.

Така зміна вмісту НЖК може свідчити про зміни електричного потенціалу в біологічних мембранах, що характерно саме для захворювань серцево-судинної системи.

Рівень ПНЖК у хворих основної групи достовірно не знижувався, незважаючи на вірогідне зменшення вмісту арахідонової жирної кислоти. Останнє зумовлене більшою мірою саме підвищенням використанням арахідонової кислоти та зниженням її синтезу. З даних таблиці 1 видно, що рівень лінолевої кислоти достовірно не зменшувався, а навіть мав тенденцію до зростання. Відомо, що саме лінолева кислота є попередником арахідонової. Стабільний рівень ПНЖК, можливо, підтримується підвищенням синтезу ейкозатрієнової кислоти з олеїнової. Отримані дані свідчать про те, що у хворих основної групи з'являється в жирнокислотному спектрі С20:3 кислота та зменшується рівень олеїнової кислоти як її попередника.

На відміну від контролю, у хворих усіх трьох порівнюваних груп має місце наявність ейкозатрієнових жирних кислот, що свідчить про недостатність ПНЖК. Рівень ейкозатрієнової кислоти відрізняється в групах, поступово збільшуючись від групи хворих на ІХС і досягаючи найвищого рівня у хворих на ХП та ІХС (достовірно порівняно з групою хворих на ІХС). Ейкозатрієнова кислота в групі здорових осіб відсутня. Згідно з теорією В.Н. Титова, вона є майже єдиною ПНЖК, яка може синтезуватись ендогенно з олеїнової кислоти. Остання також має ендогенне походження. Синтез С20:3 кислоти є компенсатор-

Таблиця 1 – Жирнокислотний спектр ліпідів еритроцитів, %

Назва ЖК	Здорові	Основна група (ІХС та ХП)	1-ша контрольна група (ІХС)	2-га контрольна група (ХП)
С14:0	-	-	-	10,2±1,6
С16:0	33,6±0,8	46,8±2,0*	48,8±2,9*	41,1±2,7*
С18:0	17,6±0,6	12,1±1,0*	11,1±1,3*	14,1±0,8*
С18:1	20,5±0,9	16,5±1,2	14,3±1,2	15,3±1,9
С18:2	14,5±1,1	15,6±1,9#	10,7±1,5*	13,8±1,1
С18:3	-	0,7±0,1	1,1±0,3	0,7±0,1
С20:3	-	1,2±0,3#	0,6±0,1	1,0±0,1
С20:4	13,9±0,7	7,1±0,6*#^	13,4±0,6	3,0±0,3*
Σнасич.	51,2±1,4	58,9±1,9*^	59,9±1,6*	66,2±1,4*
Σненасич.	48,8±1,4	41,4±1,9*^	40,1±1,6*	33,8±1,4*
ΣПНЖК	28,4±1,0	24,6±1,6^	25,8±1,8	18,5±1,2*

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з групою здорових осіб; # – $p < 0,05$ порівняно з групою хворих на ІХС; ^ – $p < 0,05$ порівняно з групою хворих на ХП.

ною реакцією на нестачу в організмі есенціальних жирних кислот. Проте ейкозаноїди, що синтезуються з ейкозатрієнової кислоти, мають ряд негативних впливів на мікроциркуляторне русло [9].

Порівнюючи основну групу з групою хворих на ІХС, окрім достовірної відмінності в спектрі С20:3 кислоти, виявлено також вірогідне зменшення в основній групі вмісту арахідонової кислоти, в групі хворих на ІХС рівень арахідонової кислоти не змінювався. У хворих компенсація досягається за рахунок збільшення синтезу з лінолевої кислоти, рівень якої достовірно знижується в мембранах еритроцитів порівняно як з основною групою, так і з групою здорових осіб. Хоча у хворих на ІХС вже починають проявлятися ознаки недостатності ПНЖК (поява в жирнокислотному спектрі ейкозатрієнової кислоти), що збігається з даними літератури [9].

При зіставленні жирнокислотного складу ліпідів з 2-ю контрольною групою виявлено, що у хворих на ХП без ІХС реєструється міристинова кислота, яка характеризує зміни в ендокринній системі. У літературі є відомості про порушення в ендокринній системі за умов ХП [11]. Також для хворих на ХП без ІХС характерне достовірне зниження рівня ПНЖК, в основному за рахунок арахідонової кислоти (майже в 4 рази порівняно з хворими на ІХС та у 2 рази порівняно з хворими на ІХС та ХП). Такі зміни попередника утворення простаноїдів свідчать про активацію процесів пероксидації та добре узгоджуються з літературними даними [1].

Також достовірно ($p < 0,05$) між хворими основної групи та групою хворих на ХП збільшується вміст насичених жирних кислот у хворих на ХП. Причому рівні пальмітинової та стеаринової кислот між групами вірогідно не змінюються. Вміст НЖК збільшується в основному за рахунок міристинової жирної кислоти. Враховуючи найнижчий рівень арахідонової кислоти у хворих на ХП, можна припустити, що

процеси пероксидації ліпідів найбільш виражені в них. Зростання вмісту НЖК є компенсаторною реакцією, оскільки саме насичені жирні кислоти досить слабо піддаються процесам пероксидації. Не останнє значення тут має саме міристинова кислота, тому що, за даними А. Kaminskas et al., при з'ясуванні причин переважання смертності від ІХС серед литовського населення порівняно зі шведами було виявлено достовірне зниження рівня міристинової кислоти серед литовців, хоча вміст лінолевої та ліноленої кислот вірогідно не змінювався [13]. З іншого боку, збільшений вміст насичених жирних кислот сприяє розвитку та прогресуванню атеросклеротичних процесів [15].

ВИСНОВКИ. 1. При поєднаному перебізі ІХС та ХП в жирнокислотному спектрі червонокривців відбувається збільшення вмісту насичених жирних кислот за рахунок пальмітинової кислоти. Такий вміст залишається відносно високим, незважаючи на зниження рівня стеаринової кислоти.

2. Найбільші зміни НЖК відбуваються в групі хворих на ХП, де в жирнокислотному спектрі починає виявлятися міристинова жирна кислота, причому особливо високий цей рівень при загостренні процесу, що, можливо, має компенсаторну протидію активації процесів пероксидації ліпідів.

3. При поєднаному перебізі ІХС та ХП достовірно зменшується вміст арахідонової кислоти порівняно з групою здорових осіб та підвищується рівень ейкозатрієнової кислоти.

4. У хворих на ХП та ІХС має місце не лише підвищення витрати арахідонової кислоти, а й зниження її синтезу з попередника – лінолевої кислоти. Внаслідок дефіциту ПНЖК інтенсифікується процес власного синтезу ПНЖК з олеїнової кислоти, в результаті чого збільшується вміст ейкозатрієнової кислоти. Остання має негативний вплив на функціональний стан клітинної мембрани.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афоніна Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 285 с.
2. Геллер Л.И., Булгакова О.С., Пашко М.М. Течение и терапия внепанкреатических осложнений хронического панкреатита // Клинич. медицина. – 1992. – 70, № 5-6. – С. 30-33.
3. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М., Рева С.Н. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кардіол. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.

4. Заздравнов А.А. Особенности перебігу хронічного панкреатиту у хворих на ішемічну хворобу серця // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. праць. – Київ-Луганськ-Харків, 2000. – Вип. 5 (31). – С. 102-107.

5. Кендзерська Т.Б., Мельничук З.А., Христин Т.М. Деякі показники гемостазу в крові при хронічному панкреатиті із супровідною ішемічною хворобою серця у хворих похилого віку // Актуальні проблеми мікроциркуляції та гемостазу при патології внутрішніх органів: Матеріали науково-практичної

конференції. – Чернівці, 2002. – С. 71-73.

6. Козычѐва Е.В., Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А. Влияние жира сельди “иваси” на эритроцитарные полиненасыщенные ω -6 и ω -3 жирные кислоты при реабилитации больных сердечно-сосудистыми заболеваниями // Вопросы питания. – 1998. – № 5-6. – С. 29-33.

7. Коломоєць М.Ю. Еритроцит при захворюваннях внутрішніх органів: патогенетична роль морфофункціональних змін, діагностичне та прогностичне значення, шляхи корекції. – Чернівці, 1998. – 240 с.

8. Мельничук З.А. Роль еритроцитарної ланки гемостазу у виникненні мікроциркуляторних розладів при хронічному панкреатиті // Буковин. мед. вісник. – 2002. – 6, № 2-3. – С. 77-79.

9. Титов В.Н. Атеросклероз – патология полиеновых жирных кислот (обзор литературы) // Клинич. лаб. диагностика. – 2001. – № 1. – С. 3-9.

10. Христич Т.М., Мельничук З.А., Коломоєць М.Ю. Морфофункціональні властивості еритроцитів при хронічному панкреатиті у хворих різного

віку // Буковин. мед. вісник. – 1999. – 3, №3. – С. 141-143.

11. Христич Т.М., Пішак В.П., Мельничук З.А. та ін. Функція деяких ендокринних органів при хронічному панкреатиті // Лік. справа. – 1998. – № 4. – С. 33-41.

12. Bartoli G.M., Palozza P., Luberto C. et al. Dietary fish oil inhibits human erythrocyte Mg,NaK – ATPase // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1995. – 312, № 3. – P. 881-887.

13. Kaminskas A., Zieden B., Eving B. et al. Adipose tissue fatty acids in men from two populations with different cardiovascular risk: the LiVcordia study // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1999. – 59, № 3. – P. 227-232.

14. Murray M.T., Pizoro J.E. Encyclopedia of Natural Medicine. – New York, 1998. – P. 83-103.

15. Watts G.F., Lewis B., Jacson P. et al. Relationships between nutrient intake and progression/regression of coronary atherosclerosis as assessed by serial quantitative angiography // Can. J. Cardiol. – 1995. – 11, Suppl. 1. – P. 110-114.

ИЗМЕНЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА

В.Г. Лизогуб, А.Н. Бондарчук, Т.С. Брюзгина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

В статье приводятся результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца на фоне хронического панкреатита.

Установлено, что у таких пациентов происходит рост насыщенности жирнокислотного спектра за счёт пальмитиновой кислоты. Уровень полиненасыщенных жирных кислот не изменяется, несмотря на снижение содержания арахидоновой кислоты, что, по видимому, обусловлено увеличением уровня ейкозотриеновой кислоты. Также в статье проводится сравнительный анализ жирнокислотного спектра между основной группой, а также группами пациентов с ишемической болезнью сердца без хронического панкреатита и хроническим панкреатитом без ишемической болезни сердца.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, эритроцит, ишемическая болезнь сердца, хронический панкреатит.

CHANGES OF FATTY-ACID SPECTRUM OF ERYTHROCYTES IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASES AGAINST A BACKGROUND OF CHRONIC PANCREATITIS

V.G. Lyzogub, O.M. Bondarchuk, T.S. Briuzgina
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

Summary

In the article the outcomes of the gas chromatography analysis of structure of fatty acids of erythrocytes in patients with ischemic heart diseases (IHD) against a background of chronic pancreatitis are presented.

It is established, that for such patients the increasing of saturation of fatty-acid spectrum is marked at the expense of palmitic acid. The level of polyunsaturated fatty acids does not change, despite of a decrease of arachidonic acid contents, that, probably, is conditioned by increase of a level of C20:3 acid. The article also presents the comparative analysis of fatty-acids spectrum between a basic group and groups of the patients with IHD without chronic pancreatitis and chronic pancreatitis without IHD.

KEY WORDS: saturated and unsaturated fatty acids, erythrocyte, ischemic heart disease, chronic pancreatitis.

Отримано 31.03.2003 р.

Адреса для листування: Т.С. Брюзгіна, вул. Крейсера Аврори, 1, кв. 2, Київ, 03191, Україна.

МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН, УРАЖЕНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ

Л.С. Фіра, Я.І. Гонський

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕСЬКОГО

В результаті проведених експериментів встановлено, що отруєння щурів NaNO_2 призводить до активації вільнорадикальних процесів, поглиблення ендогенної інтоксикації та змін у захисних системах організму, зокрема антиоксидній.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нітрит натрію, активні форми кисню, вільнорадикальне окиснення, ендогенна інтоксикація, захисні системи, метгемоглобін.

ВСТУП. В останні роки проблема нітритної інтоксикації – одна з актуальних в медицині та біології внаслідок потрапляння в організм нітритів з продуктами харчування [6, 8]. Згідно з дослідженнями *in vitro*, нітрит натрію взаємодіє з оксигемоглобіном і призводить до утворення активних радикалів: $\text{N}^{\cdot}\text{O}_2$, O_2^{\cdot} , O^{\cdot}H , $\text{N}^{\cdot}\text{O}_2$ [14]. Ці метаболіти пошкоджують біологічні мембрани, ініціюють процеси ПОЛ [12]. В процесах окиснення оксигемоглобіну утворені активні форми кисню (АФК) є продуцентами пероксиду водню, який бере участь в реакціях окиснення оксигемоглобіну. Токсична дія NaNO_2 може бути пов'язана з процесами радикального пошкодження білкових та клітинних структур у результаті реакцій пероксидації [5].

Виходячи з даних літератури про те, що нітрит натрію є класичним метгемоглобіноутворювачем [13] та генератором утворення АФК актуальним було вивчити розвиток вільнорадикальних процесів в організмі при дії токсину. При цьому, без сумніву, велика роль належить захисним системам, тому наступним нашим завданням було вивчити стан захисно-компенсаторних сил організму при отруєнні тварин NaNO_2 .

З метою виявлення метаболічних порушень при даній експериментальній патології ми досліджували ступінь ендогенної інтоксикації організму, враховуючи патогенну дію як екзогенних, так і ендогенних чинників.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на білих безпородних щурах-самцях © Л.С. Фіра – к.біол.н., Я.І. Гонський – д.мед.н., проф., 2003.

масою 120-170 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Одна група тварин отримувала нітрит натрію одноразово інтрагастрально за допомогою зонда у вигляді водного розчину в дозі 150 мг/кг маси тіла. Іншу групу становили інтактні щури.

Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію через 24 год після введення нітриту натрію. Кров забирали із серця тварин.

Об'єктом дослідження були гомогенат печінки, цільна кров та сироватка крові.

У крові досліджували вміст метгемоглобіну (Methb) [4] та еритроцитарний індекс інтоксикації [11], в печінці та сироватці крові визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) [10], фосфоліпідів (ФЛ) [7], молекул середньої маси (МСМ) [2] та активність каталази [5] і церулоплазміну [3].

Результати піддавали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених досліджень показали, що за умов гострої нітритної інтоксикації відбувається активація процесів ліпопероксидації. Це проявляється підвищенням у 3 рази рівня МДА в сироватці крові дослідних тварин. Аналогічні дані отримано при дослідженні вмісту продуктів ПОЛ у печінці. Встановлено, що після введення в організм NaNO_2 проходить нагромадження токсичних продуктів у цьому органі. Вміст МДА підвищився майже у 2 рази (табл. 1).

З літератури відомо, що одним із шляхів токсичної дії солей азотистої кислоти є зміна стаціонарних концентрацій радикальних мета-

болітів $O_2^{\cdot-}$, $O^{\cdot-}H$, $H^{\cdot}O_2$, які проявляють виражений вплив, взаємодіючи з SH-групами білків, відновними формами коферментів, а також поліненасиченими жирними кислотами. Останні, як відомо, є субстратом для процесів ПОЛ. Утворені метаболіти проявляють токсичну дію на мембрани клітин. Перш за все, це проявляється їх деструкцією та дестабілізацією, що підтверджується змінами після отруєння вмісту ФЛ у сироватці крові та печінці щурів (табл. 2).

Гостре отруєння нітритом натрію супроводжується підвищенням у сироватці крові вмісту ФЛ та зниженням його у печінці уражених тварин.

Через 24 год після потрапляння організм $NaNO_2$ відбуваються збільшення на 121 % вмісту ФЛ у сироватці крові й зниження його на 35 % у печінці. Це є прямим доказом деградації ліпідних компонентів мембранних структур і посиленого перенесення їх з печінки в кров.

Токсична дія нітросполук проявляється гіпоксією, що розвивається внаслідок утворення Met Hb, та порушенням транспорту кисню кров'ю. Максимальне зростання рівня Met Hb в крові спостерігається через 3-5 год після проникнення нітритів в організм з їжею (табл. 3).

При дослідженні вмісту MetHb в крові отруєних нітритом натрію тварин ми відмітили збільшення його в 1,8 раза через 24 год від початку експерименту.

Метгемоглобіноутворення – вільнорадикальний процес, який проходить з утворенням нітрит-іона при дії $NaNO_2$. Токсичні метаболіти, що при цьому утворюються, спричиняють деструктивну дію на мембрани еритроцитів і полегшують тим самим вивільнення гемоглобіну з останніх. Підтвердженням є вивчення відсотка пошкодження еритроцитарної мембрани в отруєному організмі. Після введення нітриту натрію в організм щурів еритроцитарний індекс інтоксикації зріс на 15 %.

При пошкодженні плазматичних мембран еритроцитів підвищується їх проникність та проходить вивільнення гемоглобіну, внаслідок чого відбувається його посилене окиснення до Met Hb, що призводить до розвитку тканинної гіпоксії. Внаслідок активації вільнорадикальних процесів в організмі нагромаджується велика кількість ендogenous токсинів, які викликають деградацію білкових компонентів мембран і зміни в активності багатьох мембранозалежних ферментів. Утворюються молекули середньої маси, які можуть бути продуктами розпаду білків, ферментів, нуклеїнових кислот.

Як видно з таблиці 4, після отруєння нітритом натрію в сироватці крові достовірно ($p < 0,05$) зріс рівень пептидів з переважаючим вмістом ланцюгових амінокислот (CM_1). Вміст пептидів з ароматичними амінокислотами (CM_2) зазнав збільшення на 20 %, але воно виявилось несуттєвим.

Таблиця 1 – Вміст МДА в сироватці крові та печінці тварин за умов гострої нітритної інтоксикації ($M \pm m$; $n=6$)

Групи тварин	Досліджувані показники	
	Сироватка крові	Печінка
Інтактні	7,60±0,90	2,40±0,10
Отруєні $NaNO_2$	23,10±1,10*	4,05±0,11*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – зміни достовірні відносно показників групи інтактних тварин.

Таблиця 2 – Вміст ФЛ у сироватці крові (г/л) та печінці (г/кг) щурів за умов гострої нітритної інтоксикації ($M \pm m$; $n=6$)

Групи тварин	Досліджувані показники	
	Сироватка крові	Печінка
Інтактні	2,80±0,25	8,30±0,20
Отруєні $NaNO_2$	6,20±0,60*	5,40±0,15*

Таблиця 3 – Вміст Met Hb (г/л) та еритроцитарний індекс інтоксикації (%) у щурів, отруєних нітритом натрію ($M \pm m$; $n=6$)

Групи тварин	Метгемоглобін	Еритроцитарний індекс
Інтактні	1,05±0,24	66,00±0,70
Отруєні $NaNO_2$	1,90±0,11*	76,20±0,50

Таблиця 4 – Вміст МСМ (ум. од./л) у сироватці крові щурів, отруєних нітритом натрію ($M \pm m$; $n=6$)

Групи тварин	CM_1	CM_2
Інтактні	0,24±0,02	0,35±0,03
Отруєні $NaNO_2$	0,34±0,01*	0,42±0,02

При дослідженні рівня МСМ у печінці спостерігалась аналогічна тенденція до його підвищення. Достовірно зріс вміст $СМ_1$ – у 1,3 раза, вміст $СМ_2$ зазнав незначного збільшення, майже не відрізняючись від норми (табл. 5).

У відповідь на введення в організм токсичного чинника проходить активація захисно-компенсаторних сил організму, що проявляється підвищенням активності таких потужних ферментів-антиоксидантів як церулоплазмін та каталаза. Вищевказані ферменти є пасткою для вільних радикалів, а каталаза, зокрема, має здатність знешкоджувати токсичний для організму пероксид водню (табл. 6).

У щурів, які отримували $NaNO_2$, через 24 год після отруєння спостерігалось значне підвищення активності каталази в сироватці крові й дещо менше – в печінці.

У сироватці крові отруєних тварин активність каталази зросла в 5 разів в порівняно з інтактними, а в печінці вона збільшилась на 27 %. Таке значне її підвищення в крові, мож-

ливо, пов'язане з деструкцією мембран гепатоцитів та еритроцитів та виходом її в сироватку крові. Стосовно незначного зростання активності каталази в печінці можна припустити, що дія $NaNO_2$ спрямована не тільки на мембрани, але і на зниження синтезу ферментів в печінці.

Вміст церулоплазміну, який є пасткою для радикалів $O^{\cdot}H$, а також може проявляти дисмутазну дію на радикали $H^{\cdot}O_2$, в сироватці крові збільшився на 57 %, що свідчить про активне включення цього ферменту в захисний процес.

ВИСНОВОК. Результати проведених нами досліджень вказують на те, що гостре отруєння тварин нітритом натрію супроводжується змінами в антиоксидній системі організму. Це є специфічною реакцією на інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення, спрямованою на знешкодження токсичних метаболітів та зменшення ендогенної інтоксикації, що може призводити до швидшого одужання тварин.

Таблиця 5 – Вміст МСМ (ум. од/кг) у печінці щурів, отруєних нітритом натрію ($M \pm m$; $n=6$)

Групи тварин	$СМ_1$	$СМ_2$
Інтактні	$3,30 \pm 0,21$	$3,80 \pm 0,25$
Отруєні $NaNO_2$	$4,20 \pm 0,15^*$	$4,00 \pm 0,15$

Таблиця 6 – Активність церулоплазміну (г/л) та каталази (мкат/г білка) в сироватці крові й печінці тварин, отруєних нітритом натрію ($M \pm m$; $n=6$)

Групи тварин	Сироватка Церулоплазмін	Сироватка Каталаза	Печінка Каталаза
Інтактні	$0,140 \pm 0,005$	$0,020 \pm 0,001$	$0,110 \pm 0,007$
Отруєні $NaNO_2$	$0,220 \pm 0,012^*$	$0,100 \pm 0,002^*$	$0,140 \pm 0,004^*$

ЛІТЕРАТУРА

1. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
2. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
4. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинград ун-та, 1982. – 272 с.
5. Николайчик В.В., Кирковский В.В., Маин В.М. и др. Средние молекулы – образование и способы определения // Лаб. дело. – 1989. – № 8. – С. 31-33.
6. Новиков Ю.В., Окладников Н.И., Сайфудинов М.М., Андреев И.А. Влияние нитритов и нитратов на состояние здоровья населения // Гиг. и санит. – 1985. – № 2 – С. 58-62.
7. Пентюк А.А., Гуцол В.И., Яковлева О.А. и др. Определение фосфолипидов по образованию гидрофобного комплекса с ферроцианатом аммония // Лаб. дело. – 1987. – № 6. – С. 457-459.
8. Сердюк А.М. Навколишнє середовище і здоров'я населення України // Довкілля та здоров'я. – 1998. – № 4 (7). – С. 2-6.
9. Сорокин Д.Ю. Нитрификация в тканях млекопитающих // Успехи совр. биол. – 1991. – 111, вып. 2. – С. 201-206.
10. 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.

11. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В., Карибжанова Р.М. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.

12. Шугалей И.В., Львов С.Н., Баев В.И., Целинский И.В. Защитное действие бикарбоната натрия при интоксикации нитрит-ионом // Укр.

биохим. журн. – 1994. – **66**, № 1. – С. 109-112.

13. Шугалей И.В., Целинский И.В., Малинина Т.В. Влияние нитрита натрия, стабильного радикала 4-окси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксила и их смеси на метгемоглобинообразование // Укр. биохим. журн. – 1990. – **62**, № 4. – С. 113-117.

14. Шугалей И.В., Целинский И.В., Малинина Т.В. О токсическом действии нитрита натрия // Гиг. и санит. – 1991. – № 4. – С. 50-53.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ, ПОРАЖЕННЫХ НИТРИТОМ НАТРИЯ

Л.С. Фира, Я.И. Гонский

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В результате проведенных экспериментов установлено, что отравление крыс NaNO_2 приводит к активации свободнорадикальных процессов, усилению эндогенной интоксикации и изменениям в защитных системах организма, в частности антиоксидантной.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нитрит натрия, активные формы кислорода, свободнорадикальное окисление, эндогенная интоксикация, защитные системы, метгемоглобин.

METABOLIC DISORDERS IN THE ORGANISM OF ANIMALS, POISONED BY NaNO_2

L.S. Fira, Y.I. Honsky

TERNOPIIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

In the result of experiments it was proved that the acute poisoning by NaNO_2 caused the activation of free radical processes in the organism of rats as well as deterioration and changes in the system of protection, especially antioxyde one.

KEY WORDS: natrium nitrite, active forms of oxygen, free-radical oxidation, endogenous intoxication, systems of protection, methemoglobin.

Отримано 19.06.2003 р.

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

ГЕМОКСИГЕНАЗНА АКТИВНІСТЬ У СЕРЦІ ТА СУДИНАХ ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

О.В. Павиченко, П.А. Каліман

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА

Встановлено, що введення $CdCl_2$ (1,4 мг/100 г маси тіла) щурам зумовлює підвищення гемоксигеназної активності в серці і судинах тварин через 6 і 24 год, причиною чого є накопичення в клітинах цих органів гему, який надійшов з кров'яного русла внаслідок внутрішньосудинного гемолізу, що спостерігається вже через 2 год після впливу. Збільшення вмісту продуктів гемолізу в сироватці супроводжується зниженням рівня гемоглобіну в крові, що свідчить про розвиток гемолітичної анемії в щурів після введення $CdCl_2$. Зростання вмісту гему призводить до активації вільнорадикального окиснення, що підтверджується підвищенням рівня ТБК-активних продуктів у сироватці, серці і судинах щурів. Обговорюється також захисна роль гемоксигенази в клітинах серця і судин при дії на організм екстремальних чинників.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемоксигеназа, гем, гемоліз, гемолітична анемія, хлорид кадмію.

ВСТУП. На сьогодні різко зросла захворюваність населення, а хвороби серцево-судинної системи зайняли головне місце в структурі загальної захворюваності. Однією з причин цього є забруднення навколишнього середовища відходами промисловості, у тому числі сполуками важких металів. Одним з найтоксичніших металів є кадмій, який характеризується високою біологічною активністю, здатністю до кумуляції та довгим періодом виведення з організму. При надлишковому надходженні до організму солей кадмію спостерігається внутрішньосудинний гемоліз [6], що супроводжується виходом у плазму гемоглобіну і вільного гему з можливим розвитком анемії. При інтенсивному гемолізі вільний гем накопичується в крові й, завдяки ліпофільній природі своєї молекули, за допомогою неспецифічних механізмів транспорту надходить до клітин різних органів, де стимулює утворення активних метаболітів кисню (АМК), активацію перекисного окиснення ліпідів і, як наслідок, ушкодження макромолекул і надмолекулярних комплексів [12]. У тканинах серця та ендотелії судин єдиним способом захисту від пошкоджувальної дії гему є його руйнування в ході гемоксигеназної реакції.

© О.В. Павиченко, П.А. Каліман – д.біол.н., проф., 2003.

Гемоксигеназа (КФ 1.14.99.3, ГО) є мікросомальним ферментом і каталізує ключову реакцію деградації гему з утворенням білівердину IX_a, монооксиду вуглецю (СО) і заліза (Fe²⁺). Тепер найбільше охарактеризовано дві ізоформи ГО, що є продуктами різних генів [7]. ГО-2 є конститутивним ферментом, а індукбельна форма ГО – ГО-1 (білок HSP32) – стресорним білком, тому що активність його підвищується при дії на організм різних стресорних чинників, у тому числі іонів кадмію [4, 7].

Дані літератури про пошкоджувальну дію гему, що утворюється при гемолізі в результаті впливу на організм важких металів, у тому числі кадмію, на клітини серцево-судинної системи є нечисленними і суперечливими [3, 4]. Крім того, невивченим залишається питання про вплив гему, що надійшов із кров'яного русла, на гемоксигеназну активність у кардіоміоцитах і ендотеліальних клітинах судин.

У зв'язку з цим, метою даної роботи стало дослідження впливу гему, що вивільнився внаслідок гемолізу, на гемоксигеназну активність і вміст його в серці та судинах, а також його прооксидної дії в крові і тканинах щурів за дії хлориду кадмію в різні терміни введення цього металу. Прооксидну дію гему визначали за накопиченням ТБК-активних продуктів (МДА)

у сироватці, серці і судинах. Про наявність внутрішньосудинного гемолізу судили за збільшенням вмісту загального гемму в сироватці, а про розвиток анемії – за зниженням рівня гемоглобіну в крові.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували щурів-самців лінії Wistar масою 200-250 г. CdCl₂ вводили підшкірно (1,4 мг/100 г маси тіла) за 0,5 год, 2 год, 6 і 24 год до декапітації. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. Для визначення рівня гемоглобіну кров брали з хвостової вени. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом.

Вміст гемоглобіну (Hb) в крові визначали за стандартним набором (Lachema), використовуючи гемоглобінціанідний метод, і виражали в г Hb на 1 л крові. Гемоксигеназну активність у гомогенатах серця і судин визначали за накопиченням білірубину та виражали в нмоль білірубину на 1 мг білка за 1 хв [8]. Рівень МДА у сироватці і гомогенатах серця і судин визначали за реакцією з ТБК і виражали в нмоль МДА на 1 мл сироватки та нмоль МДА на 1 мг білка в гомогенатах серця і судин [1]. Вміст гемму в сироватці і гомогенатах серця і судин визначали за допомогою піридингемохромного методу і виражали в нмоль гемму на 1 мл сироватки і нмоль гемму на 1 мг білка в гомогенатах тканин [11]. Вміст білка в гомогенатах серця і судин визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [9]. Статистично результати було оброблено за допомогою непараметричного тесту Манна-Уїтні [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці 1, вміст загального гемму в сироватці збільшується через 2, 6 та 24 год після вве-

дення CdCl₂. Це свідчить про внутрішньосудинний гемоліз, що супроводжується зниженням рівня Hb у крові через 2 і 6 год (табл. 1). Отримані результати про накопичення гемму в сироватці та зниження вмісту Hb в крові свідчать про розвиток гемолітичної анемії у щурів після введення CdCl₂. Накопичення гемму в кров'яному руслі корелює з підвищенням рівня ТБК-активних продуктів (r=0,83) у сироватці крові після введення CdCl₂ (табл. 1). Так, вміст МДА в сироватці збільшується через 2 год на 23 %, через 6 год на – 35 % і через 24 год – на 46 % після введення CdCl₂. Встановлена кореляція між підвищенням рівня гемму і МДА може бути зумовлена тим, що незв'язаний гем, будучи джерелом вільного заліза, спричиняє активацію вільнорадикального окиснення з подальшим зростанням вмісту продуктів ланцюгового окиснення ліпідів.

Після введення CdCl₂ спостерігається підвищення вмісту гемму в клітинах судин через 2 год на 86 %, причому через добу рівень його збільшується майже в 5 разів (табл. 2). У серці вміст гемму також починає зростати через 2 год і накопичується в наступні досліджувані терміни (табл. 2). Збільшення вмісту гемму в серці і судинах після введення хлориду кадмію швидше за все пов'язане з надходженням цього прооксиданта в клітини з кров'яного русла внаслідок внутрішньосудинного гемолізу. Накопичення гемму в клітинах призводить до індукції ГО-1 – головного ферменту деградації цього прооксиданта. Так, гемоксигеназна активність у судинах підвищується в 3 рази, порівняно з контролем, уже через 6 год після введення CdCl₂ (табл. 3). У цей же час зростання активності основного ферменту деградації гемму в 2,5 раза спостерігається й у серці. Воно зберігається і через добу. Збільшення активності

Таблиця 1 – **Вміст гемму і МДА в сироватці щурів у різний термін після введення хлориду кадмію (M±m, n=5-6)**

Параметр	Контроль	Час впливу			
		0,5 год	2 год	6 год	24 год
гем ^a	9,87±0,74	11,54±2,01	14,66±1,11*	16,98±0,99*	18,81±2,33*
МДА ^b	4,736±0,186	4,295±0,319	5,846±0,318*	9,394±0,426*	9,923±0,586*

Примітка. ^a – нмоль гемму на 1 мл сироватки; ^b – нмоль МДА на 1 мл сироватки; * – p≤0,05 відносно контролю.

Таблиця 2 – **Вміст гемму і МДА в гомогенатах серця та судин щурів у різний термін після введення хлориду кадмію (M±m, n=5-6)**

Орган		Контроль	Час впливу			
			0,5 год	2 год	6 год	24 год
Серце	Гем ^a	1,81±0,31	2,08±0,58	3,38±0,33*	4,28±0,52*	3,55±0,56*
	МДА ^b	0,281±0,023	0,289±0,010	0,457±0,036*	0,578±0,073*	0,396±0,015*
Судини	Гем ^a	2,01±0,17	2,17±0,20	3,37±0,39*	3,59±0,40*	3,34±0,61*
	МДА ^b	0,129±0,016	0,131±0,007	0,192±0,006*	0,167±0,014*	0,178±0,015*

Примітка. ^a – нмоль гемму на 1 мг білка; ^b – нмоль МДА на 1 мг білка; * – p≤0,05 відносно контролю.

Таблиця 3 – Гемоксигеназна активність у гомогенатах серця і судин щурів у різний термін після введення хлориду кадмію (нмоль білірубину/хв на 1 мг білка, $M \pm m$, $n=5-6$)

Орган	Контроль	Час впливу			
		0,5 год	2 год	6 год	24 год
Серце	0,022±0,003	0,028±0,004	0,036±0,008	0,058±0,003*	0,055±0,009*
Судини	0,031±0,004	0,030±0,006	0,034±0,005	0,052±0,003*	0,071±0,008*

Примітка. * – $p \leq 0,05$ відносно контролю.

гемоксигенази після введення хлориду кадмію, ймовірно, пов'язане з активацією синтезу ферменту *de novo* [7]. Припускають, що регуляція активності ГО-1 в умовах підвищеного вмісту гем у клітині здійснюється за участю ГО-2 [7]. У результаті зв'язування гем з спеціальними сайтами молекули ГО-2 відбувається утворення АМК, які стимулюють перенесення з цитоплазми в ядро фактора транскрипції NF- κ , що зв'язується зі спеціальними ділянками в промоторі гена ГО-1 і, відповідно, активує експресію гена даного ізоферменту [10]. Утворення АМК, що беруть участь у регуляції експресії ГО-1, у клітинах досліджуваних органів також може бути пов'язане з активацією вільнорадикального окиснення внаслідок прооксидної дії гем, що надійшов з кров'яного русла. Про це свідчать результати щодо підвищення вмісту МДА в серці і судинах після введення $CdCl_2$ (табл. 2).

Збільшення гемоксигеназної активності після введення хлориду кадмію призводить до утворення білівердину, СО та Fe^{2+} . Кожний з цих продуктів є біологічно активною сполукою. Білівердин відновлюється білівердинредуктазою до білірубину, що проявляє антиоксидантні властивості [5], СО як вторинний месенджер активує гуанілатциклазу, яка бере

участь у функціонуванні серцево-судинної системи, а залізо індукує синтез феритину, в результаті чого відбуваються зв'язування Fe^{2+} та обмеження його участі в реакції Фентона [5]. Тому посилення роботи гемоксигеназної системи після введення $CdCl_2$ може розглядатися як один із захисних механізмів в тканинах серцево-судинної системи у відповідь на стресорний вплив.

ВИСНОВКИ. Отримані результати дозволяють зробити деякі висновки про токсичні механізми дії хлориду кадмію. Надходження $CdCl_2$ спричиняє внутрішньосудинний гемоліз з розвитком гемолітичної анемії, про що свідчить зниження вмісту гемоглобіну в крові. В результаті гемолізу в кров'яному руслі накопичується гем, що здатний проникати в клітини серця і судин, активувати там процеси вільнорадикального окиснення та індукувати ГО-1. Підвищення активності стресорного білка ГО-1, а також збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у серці і судинах щурів, свідчать про розвиток оксидативного стресу за введення $CdCl_2$, однією з причин чого є накопичення в клітинах досліджуваних органів сильного прооксиданта – гем, що надійшов у кардіоміоцити та епітеліальні клітини судин із кров'яного русла внаслідок внутрішньосудинного гемолізу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. – С.Пб.: ИКФ "Фоліант", 2001. – 232 с.
2. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973. – 144 с.
3. Alam J., Wicks C., Stewart D. et al. Mechanism of heme oxygenase-1 gene activation by cadmium in MCF-7 mammary epithelial cells // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, № 36. – P. 27694-27702.
4. Bak I., Papp G., Turoczi T., Varga E. The role of heme oxygenase-related carbon monoxide and ventri-

cular fibrillation in ischemic/reperfused hearts // *Free Radic Biol Med.* – 2002. – **33**, № 5. – P. 639-648.

5. Choi A.M.K. Heme oxygenase-1 protects the heart // *Circ. Research.* – 2001. – **25**. – P. 89-105.

6. Kostic M.M., Ognjanovich B., Dimitrijevic S. et al. Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rat // *Eur. J. Haematol.* – 1993. – **51**, № 2. – P. 86-92.

7. Maines M.D. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 1997. – **37**. – P. 517-554.

8. Maines M.D., Kappas A. Prematurely evoked synthesis and induction of d-aminolevulinat synthetase neonatal. Evidence for metal ion repression of enzyme

formation // J. Biol. Chem. – 1978. – **253**. – P. 2312-2336.

9. Miller Y. Determination of protein content in tissue // Anal. Chem. – 1959. – **178**. – P. 529-538.

10. Morse D., Choi M.K. Heme-oxygenase-1 // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 2002. – **27**, №1. – P. 8-16.

11. Paul K.G., Teorell H., Akeson A. The molar light absorption of pyridine ferroprotoporphyrin // Acta Chem. Scand. – 1953. – **7**. – P. 1284-1287.

12. Wagener F.A.D.T.G.A., Eggert A., Boerman O.C. et al. Heme is potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase // Blood. – 2001. – **6**. – P. 1802-1811.

ГЕМОКСИГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В СЕРДЦЕ И СОСУДАХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ХЛОРИДА КАДМИЯ

О.В. Павиченко, П.А. Калиман

ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н.КАРАЗИНА

Резюме

Установлено, что введение $CdCl_2$ (1,4 мг/100 г массы тела) крысам обуславливает повышение гемоксигеназной активности в сердце и сосудах животных через 6 и 24 ч, причиной чего является накопление в клетках этих органов гема, который поступил из кровяного русла вследствие внутри-сосудистого гемолиза, наблюдающегося уже через 2 ч после влияния. Увеличение содержания продуктов гемолиза в сыворотке сопровождается снижением уровня гемоглобина в крови, что свидетельствует о развитии гемолитической анемии после введения $CdCl_2$. Возрастание содержания гема приводит к активации свободнорадикального окисления, что подтверждается повышением уровня ТБК-активных продуктов в сыворотке, сердце и сосудах крыс. Обсуждается также защитная роль гемоксигеназы в клетках сердца и сосудов при воздействии на организм экстремальных факторов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемоксигеназа, гем, гемолиз, гемолитическая анемия, хлорид кадмия.

HEMOXYGENASE ACTIVITY IN RAT HEART AND VESSELS AT CADMIUM CHLORIDE ADMINISTRATION

O.V. Pavychenko, P.A. Kaliman

KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.H. KARAZIN

Summary

The increasing of hemoxygenase activity in heart and in vessels in 6 and 24 h after $CdCl_2$ administration (1,4 mg/100 g of body mass) was shown. It can be caused by the heme accumulation in cells to occur in 2 h after intravascular hemolysis. The increase of hemolysis products is accompanied by the decrease of the hemoglobin level in blood. It testifies to the hemolytic anemia development after $CdCl_2$ administration. The increase of heme level causes the activation of free radical oxidation confirmed by the increasing of MDA content in serum, heart and vessels of rats. The protective role of hemoxygenase in the cells of heart and vessels at the action of different extreme causes on the organism is also discussed.

KEY WORDS: hemoxygenase, heme, hemolysis, hemolytic anemia, cadmium chloride.

Отримано 2.08.2003 р.

Адреса для листування: О.В. Павиченко, пр. 50 років ВЛКСМ, 38-В, кв. 36, Харків, Україна.

БІОХІМІЧНІ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ В ПАТОГЕНЕЗІ УРАЖЕНЬ КЛУБОВОЇ КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

М.С. Гнатюк, Л.Т. Виклюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Отруєння блідою поганкою призводить до порушень гомеостазу та важких розладів більшості систем організму. Вивчення біохімічних та імунологічних змін у клубовій кишці експериментальних тварин при даному отруєнні показало, що між посиленням процесів пероксидації, зниженням антиоксидантного захисту, локальними імунними реакціями та структурними ураженнями досліджуваного органа існує патогенетична залежність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бліда поганка, клубова кишка, процеси пероксидації, антиоксидантний захист, локальні імунні реакції.

ВСТУП. Отруєння шапковими грибами не рідко зустрічаються в Україні. Вони супроводжуються важкими розладами здоров'я людей. Слід зазначити, що 10 % отруєних помирають. Найважчі стани виникають при дії на організм токсинів блідої поганки, які призводять до глибоких порушень гомеостазу та важких розладів більшості систем організму [3]. Вищеописане свідчить, що отруєння грибами є важливою медичною і соціальною проблемою, вирішенням якої займаються як експериментатори, так і клініцисти. У цих патологічних умовах клубову кишку вивчено недостатньо. Враховуючи сказане, метою даної роботи стало вивчення біохімічних та імунологічних змін у клубовій кишці при дії на організм токсинів блідої поганки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Комплексом біохімічних, морфологічних, імуногістохімічних і морфометричних методів досліджено зміни в клубовій кишці 43 білих статевозрілих щурів-самців, яких було поділено на дві групи. 1-ша група (контрольна) нараховувала 19 інтактних експериментальних тварин, що перебували у звичайних умовах віварію, 2-га – 24 щури, отруєні блідою поганкою. Отруєння тварин здійснювали шляхом внутрішньоочеревинного введення екстракту блідої поганки [3], яку збирали в листяно-соснових лісах Тернопільської області. У день збору гриби очищали від

домішок, промивали проточною водою та гомогенізували в електроподрібнювачі. До гомогенізату додавали метанол у ваговому співвідношенні 1:10 (гриби:метанол), кип'ятили 30 хв, фільтрували за допомогою водоструминного насоса. Потім метанол випаровували до отримання маслянистої краплі, яку розбавляли ізотонічним розчином хлориду натрію з таким розрахунком, щоб доза токсину, яку вводили в організм, містилася в 1 мл. Відсутність метанолу в робочому розчині екстракту підтверджували хроматографічно. Тварин виводили з експерименту через 48 годин від його початку шляхом швидкої декапітації.

Для виявлення плазматичних клітин-продуктів Ig A, Ig M, Ig G, Ig E мікротомні зрізи клубової кишки обробляли моноспецифічними антисироватками проти вказаних класів імуноглобулінів, кон'югованими з ізотіаціанатом флуоресцеїну, застосовуючи прямий метод Кунса з відповідними контролями [4, 6, 8, 10]. Зрізи досліджували за допомогою люмінесцентного мікроскопа "Люмам Р-8". У люмінесцентному світлі підраховували плазматичні клітини, що давали специфічне світіння на 1 мм² слизової оболонки [1]. Визначали також рівень секреторного Ig A (Slg A) [5]. Вирізані шматочки клубової кишки фіксували в 10 % розчині формаліну, обробленому за Ліллі при рН 7,2-7,4, а частину матеріалу – в 1,0 % розчині оцтової кислоти на 96° холодному етанолі, рідинах Карнуа, Ценкера, 96° етиловому спирті.

© М.С. Гнатюк – д.мед.н., проф., Л.Т. Виклюк, 2003.

Після зневоднення матеріал заливали в парафін. Парафінові зрізи фарбували гематоксиліном та еозином за Ван-Гізеном, Маллорі, Вейгертом, реактивом Шіффа, альціановим синім, за модифікованим методом Грама, за Гримеліусом, Браше, Мак-Манусом-Хачкісом [9]. У стінці клубової кишки визначали також концентрацію малонового діальдегіду, супероксиддисмутази та активність каталази [2, 7]. Морфометрично підраховували клітинну щільність інфільтрату на 1 мм² слизової оболонки досліджуваного органа та відносний об'єм уражених епітеліоцитів [1]. Цифрові величини обробляли статистично. Відмінність між порівнюваними показниками досліджуваних величин визначали за критерієм Стюдента. Проводили також кореляційний аналіз між імуноморфологічними та біохімічними показниками з визначенням коефіцієнтів кореляції [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Мікроскопічно через 48 год від початку експерименту в клубовій кишці спостерігався набряк строми слизової, м'язової оболонок і підслизової основи, а також виражені дистрофічні, некробіотичні, інфільтративні процеси та судинні розлади. Останні характеризувалися розширенням, повнокров'ям судин, порушенням реології крові з утворенням сгустків і адгезією формених елементів крові, поодинокими тромбозами та вогнищевими перивазальними діapedезними крововиливами. Судинні розлади істотно переважали у венозній ланці мікроциркуляторного русла.

Результати імуноморфометричного та біохімічного досліджень представлено в таблицях 1, 2. Аналіз цих даних виявив, що у слизовій оболонці неуразеної клубової кишки локалізовані плазматичні клітини з Ig A, Ig M, Ig G, Ig E. Найбільше зустрічалося плазмоцитів з Ig A, дещо менше – з Ig M та Ig G і найменше – з Ig E. Рівень SIg A при цьому досягав (0,710±0,018) г/л. У 2-й групі спостережень вказана кількість клітин з Ig A, Ig M, Ig G, Ig E

суттєво змінювалася. Так, число клітин з Ig A в змодельованих умовах патології знижувалося з 360,50±6,30 до 310,40±6,60. Наведені цифрові величини між собою статистично достовірно відрізнялися (p<0,01), і остання виявилася меншою за попередню на 13,9 %. Число клітин-продуцентів Ig M зростало у 2,3 раза, Ig G – у 4,8 раза, Ig E – у 1,55 раза. У цих патологічних умовах концентрація SIg A знижувалася з (0,710±0,018) до (0,520±0,021) г/л. Представлені показники також між собою істотно відрізнялися (p<0,001), і останній параметр був меншим за попередній на 26,8 %. Клітинна щільність інфільтрату при цьому зросла в 1,25 раза, а відносний об'єм уражених епітеліоцитів збільшився з (1,90±0,04) до (47,70±1,80) % (p<0,001).

Відомо, що плазмоцити, локалізовані у слизовій оболонці травної та дихальної систем, виникають з В-лімфоцитів і беруть активну участь в імунних реакціях завдяки своїй здатності синтезувати специфічні білки-імуноглобуліни [5, 6]. Останні виконують важливу функцію, зменшуючи антигенну активацію чужорідних агентів, що проникають у шлунково-кишковий тракт, і регулюють склад бактеріальної флори. Більшість дослідників стверджує, що головна роль у захисті слизових оболонок належить SIg A, джерелом якого є Ig A. Незбалансоване зменшення та збільшення кількості плазматичних клітин з Ig A, Ig M, Ig G, Ig E вказують на те, що при отруєнні блідою поганкою у клубовій кишці виникають напруження та нестабільність місцевих імунних реакцій [6]. Істотне зниження концентрації SIg A є показником порушення імунного захисного бар'єру слизової оболонки досліджуваного органа, тому SIg A забезпечує першу лінію захисту слизових оболонок від агресивної дії різних антигенів [5].

Крім описаного, в стромі слизової оболонки ураженої клубової кишки з'являлися імунні комплекси та дегранульовані мастоцити. Імунні комплекси, а також Ig M та Ig G, в цих пато-

Таблиця 1 – Імуноморфологічні показники клубової кишки білих щурів при отруєнні блідою поганкою (M±m)

Показники	Групи тварин	
	1-ша	2-га
Плазматичні клітини з Ig A	360,50±6,30	310,40±6,60**
Плазматичні клітини з Ig M	181,20±4,80	420,80±8,50***
Плазматичні клітини з Ig G	73,40±2,10	350,60±7,80***
Плазматичні клітини з Ig E	25,60±0,22	39,70±0,30***
Клітинна щільність інфільтрату на 1 мм ² слизової оболонки	12537,0±120,0	15680,0±136,0**
Відносний об'єм уражених епітеліоцитів, %	1,90±0,04	47,70±1,80***
SIg A, г/л	0,710±0,018	0,520±0,021***

Примітка. p – зміни статистично достовірні порівняно з контролем: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

логічних умовах виявлялися в стінці дрібних кровоносних судин, капілярів і перивазальній стромі. Порушення балансу між клітинами-продуцентами основних класів імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G), зниження рівня SIg A і поява імунних комплексів свідчать про значні зміни локального імунного гомеостазу досліджуваного органа [5]. Кореляція цих змін з патогістологічними ураженнями клубової кишки та відносним об'ємом уражених епітеліоцитів вказує на те, що місцевим імунним реакціям при отруєнні блідою поганкою належить вагома роль у патоморфогенезі даного органа.

При дії токсинів блідої поганки відбувалося також посилення ліпопероксидних процесів у клубовій кишці (табл. 2). При цьому концентрація малонового діальдегіду зросла з $(0,141 \pm 0,015)$ до $(0,290 \pm 0,024)$ нмоль/г білка, тобто у 2 рази. Спостерігалось також зниження показників антиоксидного захисту. Так, рівень супероксиддисмутази (СОД) у змодельованих умовах патології знизився з $(58,8 \pm 2,1)$ до $(27,4 \pm 1,8)$ % інгібування, тобто у 2,1 рази, а активність каталази з $(2,15 \pm 0,24)$ до $(1,05 \pm 0,09)$ ммоль/г·хв, тобто у 2,05 рази.

Кореляційний аналіз виявив сильний позитивний зв'язок між рівнем СОД та числом клітин

з Ig A. Коефіцієнт кореляції при цьому склав $0,87 \pm 0,03$. Майже аналогічний взаємозв'язок встановлено між попереднім показником та рівнем SIg A ($r=0,92 \pm 0,04$). Слід зазначити, що сильний негативний зв'язок спостерігався між активністю каталази та відносним об'ємом уражених епітеліоцитів ($r=-0,84 \pm 0,03$). Разом із тим, між рівнем малонового діальдегіду та відносним об'ємом уражених епітеліоцитів клубової кишки досліджуваній зв'язок також був значний ($r=0,81 \pm 0,03$). Описане свідчить про те, що процеси пероксидації, а також стан антиоксидного захисту досліджуваного органа, істотно впливають на ступінь його уражень, а також на особливості перебігу локальних імунних реакцій. Усе це вказує на те, що між посиленням процесів пероксидації, зниженням антиоксидного захисту, локальними імунними реакціями та структурним ураженням досліджуваного органа існує патогенетична залежність. При цьому показники ступеня пероксидації та антиоксидантного захисту, а також досліджувані морфометричні параметри і показники, що відображають стан локальних імунних процесів, є високоінформативними критеріями уражень клубової кишки при дії на організм токсинів блідої поганки.

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

Показники	Групи тварин	
	1-ша	2-га
Малоновий діальдегід, нмоль/г білка	$0,141 \pm 0,015$	$0,290 \pm 0,024^{**}$
Супероксиддисмутаза, % інгібування	$58,8 \pm 2,1$	$27,4 \pm 1,8^{***}$
Каталаза, ммоль/г·хв	$2,15 \pm 0,24$	$1,05 \pm 0,09^{**}$

ВИСНОВОК. Комплексом біохімічних, імуноморфологічних методів встановлено, що отруєння організму блідою поганкою супроводжується деструктивними, інфільтративними процесами, судинними розладами, порушенням локального імунного гомеостазу, посилен-

ням процесів пероксидації та зниженням антиоксидного захисту клубової кишки. Виявлено, що між досліджуваними процесами існує патогенетична залежність, детальне вивчення якої може бути перспективою подальших досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М: Медицина, 1990. – 318 с.
2. Андреева Л.И., Кожемякин М.А., Кишкун А.А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
3. Бойчук Б.Р. Отруєння грибами. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1997. – 200 с.
4. Гнатюк М.С. Местные иммунные реакции при

холецистите // Вестн. хирургии. – 1997. – **156**, № 6. – С. 19-22.

5. Дударь Л.В., Бычкова Н.Г. Оценка состояния местной иммунной реакции оболочки толстой кишки у больных неспецифическим язвенным колитом // Врач. дело. – 1994. – № 1. – С. 81-83.

6. Кімакович В.Й., Чоп'як В.В., Бродик О.В. Імунна система шлунково-кишкового тракту в нормі та патології. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1999. – 100 с.

7. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы. // Лаб. дело. – 1988. – С. 16-19.

8. Синельникова М.П., Новикова А.В., Данилова Е.А. Количественная характеристика иммунокомпетентных клеток слизистой оболочки толстой кишки при острой дизентерии // Архив патологии. – 1977. – 39, № 6. – С. 13 – 18.

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

10. Coons A.H., Kaplan M.H. Localization of antigen in tissue cells. Improvement in a method for the defect of antigen by means of fluorescent antibody // J. exp. Med. – 1950. – 91, № 1. – P. 1-13.

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОРАЖЕНИЙ ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ

М.С. Гнатюк, Л.Т. Выклюк

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Отравление бледной поганкой приводит к нарушениям гомеостаза и тяжелым расстройствам большинства систем организма. Изучение биохимических и иммунологических изменений в подвздошной кишке экспериментальных животных при данном отравлении показало, что между усилением процессов пероксидации, снижением антиоксидантной защиты, локальными иммунными реакциями и структурными поражениями исследуемого органа существует патогенетическая зависимость.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бледная поганка, подвздошная кишка, процессы пероксидации, антиоксидантная защита, локальные иммунные реакции.

BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGIC ASPECTS IN PATHOGENESIS OF ILEUM AFFECTION AT DEATH-CUP POISONING

M. S. Hnatjuk, L. T. Vykyuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The death-cup poisoning causes the homeostasis disturbances and severe disorders of many organism systems. The study of biochemical and immunologic changes in ileum of experimental animals has shown the pathogenetic correlation between the increase of peroxidation processes, reduction of antioxidant protection, local immune reactions and structural changes of investigated organ.

KEY WORDS: Amanita phalloides, ileum, peroxidation processes, antioxidant protection, local immune reactions.

Отримано 15.04.2003 р.

Адреса для листування: , Україна.

ПОРУШЕННЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ У ХВОРИХ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ В ПОЄДНАННІ З ОСТЕОАРТРОЗОМ

М.І. Швед, Н.М. Вівчар, С.Н. Вадзюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено залежність змін перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту від рівня артеріального тиску і мінеральної щільності кісткової тканини у 109 хворих з артеріальною гіпертензією в поєднанні з остеоартрозом. Встановлено, що одночасне застосування в комплексній терапії інгібітора АПФ моексиприлу та антиоксиданта емоксипіну дозволяє суттєво зменшити продукцію перекисних форм ліпідів, відновити функціональний стан антиоксидних систем захисту організму і нормалізувати параметри добового ритму артеріального тиску в 79,4 % хворих.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: артеріальна гіпертензія, остеоартроз, перекисне окиснення ліпідів, моексиприл, емоксипін.

ВСТУП. Гіпертонічна хвороба та остеоартроз є одними з найрозповсюдженіших захворювань і безсумнівним фактором ризику серцево-судинних ускладнень, втрати працездатності та смертності населення. За частотою поєднання ці патології займають перше місце в популяції [5, 6, 7]. Однак, на сьогодні ще не розкрито патофізіологічні механізми як підвищення артеріального тиску (АТ), так і ушкодження суглобо-кісткової системи, що зумовлює низьку ефективність лікування таких хворих.

В останні роки завдяки науковим розробкам вітчизняних та зарубіжних учених сформувалась концепція про суттєву роль порушень рівноваги про- та антиоксидної систем у зміні метаболізму оксиду азоту, дисфункції ендотелію судин, морфофункціональному пошкодженні мембранних структур [8, 9, 13]. Описані механізми є універсальними патогенетичними ланками для розвитку багатьох нозологій, в тому числі артеріальної гіпертензії (АГ) та остеоартрозу [2, 3, 11].

Вищенаведені факти обґрунтували проведення даного дослідження, метою якого було вивчити залежність змін перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидної системи (АОС) захисту від рівня АТ і мінеральної щільності кісткової тканини у хворих з АГ в поєднанні з ОА та можливість корекції виявлених порушень за допомогою комплексної терапії

© М.І. Швед – д.мед.н., проф., Н.М. Вівчар, С.Н. Вадзюк – д.мед.н., проф., 2003.

(інгібітора АПФ моексиприлу та антиоксиданта емоксипіну).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено дослідження 109 хворих з артеріальною гіпертензією в поєднанні з остеоартрозом. Серед обстежених пацієнтів з II стадією АГ було 35,8 % хворих з м'яким, 41,3 % – з помірним і 22,9 % – з тяжким перебігом хвороби. Діагноз есенціальної гіпертензії та остеоартрозу встановлювали за уніфікованими діагностичними критеріями [1]. Вираження суглобового синдрому оцінювали за больовим, запальним та функціонально-суглобовим індексами в балах від 0 до 3. Більшість хворих мала тривалий анамнез АГ та ОА – понад 5 років. Серед обстежених було 74 (67,9 %) жінки та 35 (32,1 %) чоловіків, середній вік хворих становив (56,2±7,8) року. Всіх пацієнтів поділили на 3 вікові групи: молодий вік – до 45 років, середній – 45-60 років, похилий – понад 60 років. Відмітимо, що середній вік, в якому настала менопауза у обстежених нами жінок, становив (48,4±2,1) року.

Поряд з загальноприйнятими клінічними обстеженнями всім хворим проводили дослідження добового профілю АГ за допомогою апарата MediCAD V 1.2. ("Сальвейг", Україна) та визначення мінеральної щільності кісткової тканини поперекового відділу хребта (L1-L4) і стегнової кістки за допомогою двофотонного рентгенівського денситометра ДЕХА ("Lunar", США). Концентрацію проміжних і кінцевих

продуктів ПОЛ у крові визначали за методом Placer з використанням спектрофотометра СФ-26. Функціональний стан АОС оцінювали на основі визначення концентрації глутатіону відновленого (ГВ), окисненого (ГО), токоферолу (Е) та ретинолу (А) [4].

Залежно від застосованої методики лікування обстежених пацієнтів поділили на такі групи: 37 хворих 1-ї групи отримували фонову (загальноприйнятну) терапію, яка включала в середньотерапевтичних дозах нестероїдний протизапальний середник диклофенак натрію, хондропротектор алфлутоп, препарат "Кальцій D₃-нікомед", інгібітор АПФ еналаприл; у 38 хворих 2-ї групи вищенаведена програму лікування модифікували, призначаючи замість еналаприлу інгібітор АПФ II покоління моексиприл по 7,5-15,0 мг/добу; 3-ю групу склали 34 хворих з АГ у поєднанні з ОА, в комплексну терапію яких крім моексиприлу, включали синтетичний антиоксидант емоксипін – по 1 мл 1 % розчину внутрішньом'язово двічі на добу протягом (18±2) днів. До контрольної групи ввійшло 30 здорових осіб тих же віку і статі, що й пацієнти дослідних груп. Їх обстежували за вищенаведеною програмою, вони не отримували медикаментозного лікування.

Обстеження пацієнтів проводили до і після тритижневого курсу лікування. Результати оброблено статистично на персональному комп'ютері з використанням стандартного пакета програми "Microsoft Excel". Достовірність різниці розраховували за критерієм Стьюдента при рівні значимості $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Основні показники добового моніторингування артеріального тиску (ДМАТ) в обстежених хворих свідчили про те, що у вихідному стані (до лікування) у пацієнтів з мікст-патологією середньодобовий рівень систолічного і діастолічного АТ був значно вищим норми і дорівнював, відповідно, (168,4±5,1) і (98,7±3,2) мм рт. ст. Причому його коливання впродовж дня були достовірно більшими, ніж протягом ночі, а в 46 (42,2 %) хворих зафіксовано епізоди стрімких і раптових зростань АТ, які перевищували середній тиск на 25-45 %. Особливостями обстежених пацієнтів були також висока варіабельність АТ протягом доби та виражене і швидке збільшення АТ у вранішній період (у 2,5-5,5 раза вище, ніж у контролі), що суттєво підвищує ризик розвитку ускладнень зі сторони органів-мішеней [14]. Про стабільний і досить важкий перебіг АГ у обстежених нами хворих свідчили високий індекс часу, тобто переважанення серця тиском, який для систолічного АТ в 7-8 разів, а для діастолічного – в 5-7 разів перевищував аналогічний

показник в групі здорових людей, що вважається несприятливою прогностичною ознакою стосовно розвитку гіпертрофії лівого шлуночка [15].

Особливістю досліджуваної вибірки було також те, що при рентгенологічному дослідженні суглобів та денситометрії поперекового відділу хребта у 23 (22,3 %) пацієнтів клініко-рентгенологічні зміни в суглобах відповідали I стадії, у 65 (59,6 %) – II стадії та у 21 (19,3 %) – III стадії ОА. Найчастішими рентгенологічними ознаками остеодистрофії у обстежених хворих були звуження суглобової щілини (66,1 %), остеофітоз (45,0 %), субхондральний склероз (70,6 %). Порушення кісткової структури епіфізів кісток у вигляді кістоподібної перебудови, остеопорозу виявлено у 32 (29,4 %) осіб з ОА. Причому такі зміни частіше зустрічались у жінок післяменопаузального періоду. Серед 77 хворих на ОА з явищами субхондрального склерозу кістки у 23 (29,9 %), за даними денситометричного дослідження, виявлено помірну стадію остеопенії осьового скелета. Мінеральна щільність кісткової тканини хребців поперекового відділу хребта у цих пацієнтів складала (0,987±0,041) г/см², при T=-1,46±0,04 і Z=-1,34±0,04. Серед обстежених цієї групи було 8 чоловіків і 15 жінок, 12 з яких – пізнього післяменопаузального періоду. Середній їх вік склав (64,2±4,7) року.

Враховуючи важливість збереження стабільної структури і функції клітини та внутрішньоклітинних мембран для нормального проходження обмінних процесів в організмі, зокрема кістковій тканині, ми проаналізували стан вільнорадикального окиснення ліпідів (ВРОЛ) у хворих з АГ у поєднанні з ОА і його зміни під впливом запропонованих програм лікування (табл. 1).

Результати дослідження показали суттєву активацію процесів ПОЛ у вихідному стані, про що свідчило достовірне підвищення концентрації в крові перекисів, дієнових кон'югат і малонового діальдегіду. Одночасно спостерігались зниження в сироватці крові вмісту природних антиоксидантів (β-токоферолу та ретинолу), активності ферментів АОС (СОД), рівня ГВ та підвищення ГО, тобто система антирадикального захисту була виснаженою в усіх хворих з АГ у поєднанні з ОА. У цілому отримані результати свідчать про виражене порушення морфофункціональної стабільності клітинних і внутрішньоклітинних мембран та неспроможність антиоксидних систем у цих пацієнтів, що й обґрунтувало включення в комплексну терапію синтетичного антиоксиданта емоксипіну, який позитивно зарекомендував себе при іншій патології, що також супроводжується синдромом пероксидації [10, 12].

Дослідження динаміки клінічної симптоматики окремих патологічних синдромів (артеріальної гіпертензії, остеоартрозу з явищами остеохондрозу та остеоартрозу з ознаками остеопорозу) під впливом застосованих лікувальних комплексів показало їх суттєву перевагу перед комплексом загальноживаної терапії. Їх терапевтична ефективність виявилася достовірно вищою в усіх виділених групах пацієнтів з різними клінічними проявами мікст-патології ($p < 0,05$). Слід зауважити і значно меншу кількість хворих з відсутністю ефекту від запропонованих програм лікування. Так, традиційна комплексна терапія виявилася найефективнішою для лікування пацієнтів з артеріальною гіпертензією, яка поєднується з остеохондротичною артропатією. Разом з тим, відсутність клінічного ефекту у 25-38 % хворих цієї групи, особливо у пацієнтів з остеопоротичним синдромом, вказує на неадекватність фонові медикаментозної терапії у хворих з АГ у поєднанні з остеохондротичною артропатією і дозволяє зробити висновок про необхідність модифікації існуючих методів лікування таких пацієнтів.

Застосування комплексної терапії з включенням інгібітора АПФ мексиприлу в 38 хворих з АГ у поєднанні з ОА показало її досить високу адекватність. За результатами ДМАТ, зменшувався на 16,7 % середньодобовий рівень АТ і суттєво покращувались такі прогностично несприятливі показники, як варіабельність тиску, індекс часу "навантаження тиском" та величина і швидкість вранішнього підвищення АТ, які знижувались, відповідно, на 24,3, 33,1, 35,6 і 43,5 %. Деяко нижчими були результати впливу даної терапії на параметри діастолічного АТ. У цілому цільового рівня АТ під дією комплексної терапії з включенням мексиприлу досягнуто у 24 (63,2 %) хворих даної групи. Ще в 11 (28,9 %) пацієнтів відмічено достовірне зниження АТ, але його рівень не досягав контрольних величин.

Покращання параметрів добового ритму АТ у хворих даної групи супроводжувалось достовірним зниженням концентрації кінцевих продуктів ліпопероксидації та зростанням активності антиоксидантних систем ($p < 0,05$). У цілому у 27 (71,1 %) обстежених цієї групи

Таблиця 1 – Динаміка показників ВРОЛ у хворих з АГ в поєднанні з ОА під впливом запропонованих програм лікування ($M \pm m$)

Показники ПОЛ та АОСЗ		Хворі з артеріальною гіпертензією в поєднанні з остеоартрозом		p_1	p_2
		до лікування	після лікування		
МДА, мкмоль/л	1	2,25±0,13	-	-	-
	2	2,71±0,12*	2,48±0,12	<0,05	>0,05
	3	2,97±0,11*	2,49±0,12	<0,05	<0,05
	4	2,78±0,12*	2,32±0,11	<0,05	<0,05
ДК, мкмоль/л	1	17,1±0,1	-	-	-
	2	18,1±0,1*	17,5±0,1*	<0,05	<0,05
	3	17,9±0,1*	17,5±0,1*	<0,05	<0,05
	4	17,8±0,1*	17,2±0,1	<0,05	<0,05
ГВ, ммоль/л	1	1,19±0,02	-	-	-
	2	1,04±0,02*	1,09±0,03*	<0,05	>0,05
	3	1,03±0,02*	1,12±0,02*	<0,05	<0,05
	4	1,02±0,02*	1,20±0,02	<0,05	<0,05
ГО, ммоль/л	1	2,26±0,02	-	-	-
	2	2,43±0,03*	2,36±0,03*	<0,05	>0,05
	3	2,45±0,03*	2,33±0,02*	<0,05	<0,05
	4	2,43±0,03*	2,22±0,03	<0,05	<0,05
Віт. Е, ммоль/л	1	21,1±0,2	-	-	-
	2	16,0±0,2*	18,1±0,2*	<0,05	<0,05
	3	16,6±0,2*	18,4±0,2*	<0,05	<0,05
	4	16,3±0,2*	20,7±0,2	<0,05	<0,05
Віт. А, ммоль/л	1	2,8±0,1	-	-	-
	2	2,4±0,1*	2,6±0,1	<0,05	>0,05
	3	2,4±0,1*	2,7±0,1	<0,05	<0,05
	4	2,4±0,1*	2,8±0,1	<0,05	<0,05
СОД, %	1	11,1±0,2	-	-	-
	2	12,4±0,2*	11,9±0,2*	<0,05	>0,05
	3	12,8±0,2*	11,7±0,2*	<0,05	<0,05
	4	12,8±0,2*	11,1±0,2	<0,05	<0,05

Примітки: 1, 2, 3, 4 – відповідно, значення показників в контрольній, 1-й, 2-й та 3-й дослідних групах хворих. p_1 – достовірність різниці між даними у здорових і хворих до лікування; p_2 – достовірність різниці між параметрами до і після лікування; * – позначені показники достовірно відрізняються від таких же в контрольній групі.

показники пероксидації та АОС нормалізувалися після проведення курсу лікування з застосуванням моексиприлу, що достовірно вище порівняно з результатами загально-вживаної терапії. Одночасно відмітимо, що в 11 (28,9 %) пацієнтів динаміка параметрів ПОЛ і АОС була недостовірною відносно вихідних даних. Враховуючи ці дані, а також особливості патогенезу дистрофічних змін в міокарді та кістковій системі і велике значення при цьому порушень ліпопероксидації, ми проаналізували ефективність комплексного лікування з застосуванням антиоксиданта емоксипіну у хворих з АГ у поєднанні з ОА.

Встановлено, що одночасне включення в комплексну терапію моексиприлу та емоксипіну дозволяє підвищити в середньому на 19 % загальну клінічну ефективність лікувальної програми стосовно корекції синдрому артеріальної гіпертензії та на 56-62 % знизити симптоматику остеоартрозу на фоні остеосклерозу або остеопорозу.

Механізм реалізації позитивного ефекту запропонованого медикаментозного комплексу прослідковується при аналізі його впливу як на гемоциркуляцію, так і на параметри ВРОЛ. У 22 (64,7 %) хворих досягнуто цільового рівня АТ, що супроводжувалось достовірним зниженням його варіабельності протягом доби, а також зменшенням індексу часу "навантаження тиском" на 35,6 %, величини і швидкості вранішнього підвищення АТ на 44,5 і 50,7 % відповідно.

Відмітимо також, що комплексна терапія з включенням моексиприлу та емоксипіну не лише стабілізувала перебіг артеріальної гіпертензії, але й приводила до достовірного зменшення клінічних проявів остеоартропатії. Так, у хворих даної групи суттєво знижувались індекси: больовий – з $(1,98 \pm 0,12)$ до $(0,72 \pm 0,11)$ балів, суглобовий – з $(1,41 \pm 0,10)$ до $(0,53 \pm 0,11)$ балів. У цілому позитивну динаміку клінічної симптоматики остеоартрозу і відновлення функціональної здатності суглобів під впливом запропонованої комплексної терапії констатовано у 31 (91,2 %) хворого з АГ, і лише в 3 (8,8 %) пацієнтів з АГ у поєднанні з ОА лікувальний

комплекс не дав очікуваного клінічного ефекту.

Одним із патогенетичних механізмів терапевтичного ефекту застосованих фармакологічних засобів є їх антиоксидні властивості. Використання комплексної терапії з включенням моексиприлу та емоксипіну вже протягом перших трьох тижнів лікування дозволяє добитися повної нормалізації параметрів ПОЛ і відновлення функціональної здатності АОС у 31 (91,2 %) хворого з АГ у поєднанні з ОА. Лише в 3 (8,8 %) обстежених пацієнтів динаміка параметрів ПОЛ і АОС була недостовірною відносно вихідних даних.

Достовірно вища терапевтична ефективність комплексної терапії з включенням моексиприлу та емоксипіну, порівняно з даними в групі хворих, які отримували комплексну терапію без антиоксиданта, свідчить про важливе патогенетичне значення порушень ВРОЛ як у розвитку і прогресуванні артеріальної гіпертензії, так і деградації суглобового хряща та мінеральної щільності кісткового скелета, а також обґрунтовує призначення моексиприлу та емоксипіну цій категорії хворих.

ВИСНОВКИ. 1. У 70,7 % хворих з АГ у поєднанні з ОА виявлено порушення циркадного ритму АТ, що при одночасному збільшенні індексу часу підвищеного тиску та швидкості вранішнього його підвищення є несприятливою прогностичною ознакою.

2. Підвищення активності ПОЛ з одночасним зниженням функціональної здатності антиоксидних систем організму є фактором патогенезу та прогресування як артеріальної гіпертензії, так і остеоартрозу та остеопорозу, а також причиною низької ефективності загально-вживаної медикаментозної терапії у таких хворих.

3. Поєднане застосування в комплексній терапії інгібітора АПФ моексиприлу та антиоксиданта емоксипіну дозволяє нормалізувати параметри добового АТ у 79,4 % хворих з АГ у поєднанні з ОА, суттєво зменшити продукцію перекисних форм ліпідів та відновити функціональний стан антиоксидних систем.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беневоленская Л.И., Бржезовский М.М. Эпидемиология ревматических болезней. – М.: Медицина, 1988. – 283 с.
2. Билян Л.Ф., Овсепян Л.М., Осипова Э.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патогенезе различных заболеваний. – Ереван, 1988. – С. 48-53.

3. Дерпак Ю.Ю. Стан перекисного окислення ліпідів та гемостазу у хворих на гіпертонічну хворобу, лікованих методом РДТ в поєднанні з вітаміном Е // Вісн. наук. дослідж. – 2002. – № 2. – С. 29-31.

4. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови // Укр. биохим. журн. – 1992. – 64, № 2. – С. 3-15.

5. Князева М.В. Перспективы изучения проблемы сочетания остеохондроза позвоночника с другими заболеваниями // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2001. – **3-4**. – С. 3-7.

6. Коваленко В.М., Шуба Н.М., Корнацкий В.М. Сучасний стан ревматологічної служби в Україні // Укр. ревматолог. журн. – 2001. – **3-4**. – С. 3-7.

7. Коломиец В.В., Зейдан З.И. Суточный профиль артериального давления у больных артериальной гипертензией в сочетании с остеопорозом // Укр. мед. альм. – 2002. – **5**, № 3. – С. 73-76.

8. Манухина Е.Б., Лямина Н.П., Долотовская П.В. и др. Роль оксида азота в патогенезе артериальной гипертензии // Кардиология. – 2002. – № 11. – С. 73-84.

9. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. – М.: Медицина, 1984. – 272 с.

10. Нелаева А.А., Фоломеева О.М. Медико-социальные проблемы хронических заболеваний суставов и позвоночника // Тер. арх. – 2000. – № 5. – С. 5-8.

11. Цебржинский О.О. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. – Полтава: Б.И., 1992. – С. 120-155.

12. Швед М.И., Белозецкая С.И. Коррекция эмоксипином нарушения перекисного окисления липидов у больных деформирующим остеоартрозом // Врач. дело. – 1991. – № 10. – С. 101-103.

13. Pagano P.J., Tarnheim K., Cohen R.A. Superoxide anion production by the rabbit thoracic aorta: Effect of endothelium-derived nitric oxide // Am. J. Physiol. – 1993. – **265**. – P. 707-712.

14. Verdecchia P., Porcellati C., Schilacci G. et al. Ambulatory blood pressure an independent predictor of prognosis in essential hypertension // Y. Hypertens. – 1994. – **24**. – P. 793-801.

5. White W.B. Cardiovascular risk and therapeutic intervention for the early morning surge in blood pressure and heart rate // Blood Press. Monit. – 2001. – **6**. – P. 63-72.

НАРУШЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ИХ КОРРЕКЦИЯ У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В СОЧЕТАНИИ С ОСТЕОАРТРОЗОМ

М.И. Швед, Н.М. Вивчар, С.Н. Вадзюк

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучено зависимость изменений перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты от уровня артериального давления и минеральной плотности костной ткани у 109 больных артериальной гипертензией в сочетании с остеоартрозом. Установлено, что включение в комплексную терапию ингибитора АПФ мозексиприла и антиоксиданта эмоксипина дает возможность существенно уменьшить продукцию перекисных форм липидов, восстановить функциональное состояние антиоксидантных систем защиты организма и нормализовать параметры суточного ритма артериального давления у 79,4 % больных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: артериальная гипертензия, остеоартроз, перекисное окисление липидов, мозексиприл, эмоксипин.

LIPID PEROXIDATION DISORDERS AND THEIR CORRECTION IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND OSTEOARTHRISIS

M.I. Shved, H.M. Vivchar, S.N. Vadziuk

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

It was studied lipid peroxidation and antioxydative activity according to the level of blood pressure and mineral bone density in 109 patients with arterial hypertension and osteoarthritis. It was established that combined therapy, which includes inhibitor of angiotensin-converting hormone moexipril and antioxydative preparation emoxipin helps to decrease the lipid peroxidative components production, to increase the antioxydative system activity of the organism and to normalize levels of blood pressure in 79,4 % patients during the monitoring.

KEY WORDS: arterial hypertension, osteoarthritis, lipid peroxidation, moexipril, emoxipin.

Отримано 24.07.2003 р.

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

ВПЛИВ РОЗВАНТАЖУВАЛЬНО-ДІЄТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ В ПОЄДНАННІ З α -ТОКОФЕРОЛОМ НА РІВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ХВОРИХ НА ОЖИРІННЯ ІЗ СУПРОВІДНОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Ю.Ю. Дерпак

ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМ. І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

При лікуванні хворих на ожиріння із супровідною артеріальною гіпертензією вплив розвантажувально-дієтичної терапії в поєднанні з вітаміном Е на активність перекисного окиснення ліпідів вивчали за рівнем у плазмі крові дієнових кон'югат, малонового діальдегіду, функціональний стан антиоксидної системи захисту оцінювали за концентрацією супероксиддисмутази, токоферолу. Проведені дослідження показали, що запропонований метод лікування дозволяє в короткі терміни домогтися зменшення маси тіла, зниження артеріального тиску, зникнення симптоматики основного та низки супровідних захворювань, а також сприяє відновленню рівноваги в оксидно-антиоксидній системі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ожиріння, артеріальна гіпертензія, розвантажувально-дієтична терапія, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидна система, вітамін Е.

ВСТУП. На сьогодні ожиріння є серйозною медико-соціальною проблемою економічно розвинутих країн. Його розповсюдженість становить від 25 до 53,5 % (20-30 % складають чоловіки, 30-40 % – жінки, 10 % – діти шкільного віку). У сучасному суспільстві ожиріння досягло рівня епідемії [1, 5]. У популяції одночас з поширенням ожиріння в одному темпі статистично достовірно зростає відсоток “хвороб-супутників”: артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, цукрового діабету II типу, жовчнокам'яної хвороби, подагри тощо. Згідно із сучасними уявленнями, ожиріння – поліетіологічне захворювання, що характеризується надлишковим вмістом жирової тканини в організмі (25 % і більше від маси тіла, індекс маси тіла (ІМТ) > 25 кг/м²) [1]. Однак патогенез захворювання до кінця не з'ясовано. Зіжнення основного обміну речовин, підвищення рівня загального холестерину, тригліцеридів, зменшення вмісту ліпопротеїдів високої щільності, гіпоксія та ішемія життєво важливих органів, активація симпатико-адреналової системи, процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і пригнічення антиоксидної системи (АОС) організму, що мають місце при ожирінні, сприяють ураженню серцево-судинної системи, зростанню в'язкості крові, розвитку остеопорозу, передчасному старінню та смерті [1, 5].

© Ю.Ю. Дерпак, 2003.

обмеження надходження калорій з їжею за рахунок дотримання відповідної дієти, повного або часткового голодування та збільшення енергетичних витрат організму шляхом призначення різноманітних фізичних навантажень. Дозоване припинення поступлення калорій з їжею під час розвантажувального періоду розвантажувально-дієтичної терапії (РДТ) можна розглядати як патогенетичну ланку у терапії цієї патології, яка забезпечує: 1) підвищення неспецифічної резистентності організму, 2) гіпосенсибілізацію організму, 3) дезінтоксикацію, 4) автоліз патологічно змінених тканин, 5) утворення біогенних стимуляторів, які посилюють регенеративні процеси в організмі, а також чинять коригувальний вплив на геморологічні та мікроциркуляторні порушення [4, 6].

Метою роботи було вивчення ролі ПОЛ як вирішального ініціатора атеросклеротичного процесу, універсального молекулярного механізму автоімунних та запальних реакцій у судинній стінці, які сприяють пошкодженню ендотеліальних клітин, зменшенню регіонарного вироблення нітрокислиду та простагліцину, призводячи тим самим до порушення співвідношення простагліцинів/тромбоксан, змін у системі гемостазу та вазоконстрикції.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами обстежено 82 хворих на ожиріння із супровідною АГ (33 чоловіків і 39 жінок) віком від 21 до 62 років. Пацієнтів було поділено на три групи: 1-шу

групу склали 36 (43,9 %) хворих на ожиріння I ступеня (індекс Кетле – $(32,3 \pm 2,2)$ кг/м²) із супровідною АГ I, II ступенів, 2-гу – 34 (41,4 %) пацієнти з ожирінням II ступеня (індекс Кетле – $(37,1 \pm 3,1)$ кг/м²) із супровідною АГ I, II, III ступенів, 3-тю – 12 (14,6 %) хворих на ожирінням III ступеня (індекс Кетле – $(46,3 \pm 2,3)$ кг/м²) із супровідною АГ II, III ступенів. Лікування здійснювали згідно з методикою описаною проф. Ю.С. Ніколаєвим [6], проф. П.П. Кузівим [4]. При цьому застосовували метод РДТ в поєднанні з вітаміном Е в дозі 100 мг 2 рази щоденно. Розвантажувальний період тривав 14-21 день, відновний – 8-11 днів. Групу порівняння склали 20 практично здорових осіб, серед яких 8 чоловіків і 12 жінок віком від 21 до 50 років. Діагноз було верифіковано на основі комплексного клініко-лабораторного обстеження, а також даних інструментального дослідження.

Про активність ПОЛ судили за рівнем у плазмі крові дієнових кон'югат (ДК), малонового діальдегіду (МДА) [8]. Функціональний стан АОС оцінювали на основі визначення активності супероксиддисмутази (СОД), вмісту вітаміну Е [2, 3, 7].

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Показники ПОЛ у хворих на ожиріння I, II, III ступенів і супровідною АГ I, II, III ступенів достовірно відрізнялись між собою, а їх середнє значення перевищувало рівень здорових осіб. Спостерігалася надмірна активація процесів ПОЛ,

причому у всіх трьох групах вірогідно була більшою за контрольні дані ($p < 0,001$). Так, у 1-й групі концентрація МДА і ДК перевищувала аналогічні показники здорових осіб на 23 і 17 % ($p < 0,001$). У міру прогресування хвороби спостерігалася динамічна інтеграція ПОЛ, про що свідчила висока концентрація МДА і ДК у плазмі крові, яка на 26 і 12 % була більшою за відповідні показники контрольної групи (табл. 1).

При аналізі показників ПОЛ кожного хворого виявлено, що у 5 пацієнтів з I ступенем ожиріння, у 4 – з II ступенем, концентрація МДА і ДК перебувала в межах контрольних величин. Слід зазначити, що у 5 (6,09 %) хворих 1-ї групи спостерігалось значне збільшення вмісту продуктів ліпопероксидації, у 2-й групі концентрація даних продуктів зросла в 91,67 % хворих щодо пацієнтів 3-ї групи, при стабільному перебізі показники ПОЛ були підвищеними помірно, на відміну від періоду після перенесених ускладнень, при якому вони різко зростали. Протягом усього розвантажувального періоду відбувалася різка інтенсифікація процесів ПОЛ з накопиченням продуктів ліпопероксидації. Так, концентрація МДА і ДК практично у всіх хворих знизилась на 2,9 і 3,2 % та перед виписуванням із стаціонару відповідала рівню здорових осіб.

Оскільки процеси ПОЛ перебувають у тісному взаємозв'язку з активністю АОС організму, нами проведено дослідження, спрямовані на вивчення функціонального стану останньої. Про ступінь активності АОС судили за рівнем активності ферменту СОД та неферментного

Таблиця 1 – Динаміка показників перекисного окиснення ліпідів у хворих на ожиріння із супровідною артеріальною гіпертензією при проведенні розвантажувально-дієтичної терапії в поєднанні з вітаміном Е (М+m)

Група обстежених	МДА, мкмоль/л			ДК, ммоль/л		
	до лікування	в кінці розвантажувального періоду	в кінці відновного періоду	до лікування	в кінці розвантажувального періоду	в кінці відновного періоду
Здорові n=20	2,12±0,05			16,84±0,15		
Хворі 1-ї групи n=14	2,79±0,39	4,23±0,34	2,15*±0,06	18,38±0,34	20,47±3,50	16,05*±0,11
p_{1-2}	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Хворі 2-ї групи n=12	3,11±0,09	5,33±0,35	2,34*±0,11	18,95±0,18	21,01±0,76	16,36*±0,16
p_{1-3}	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p_{2-3}	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Хворі 3-ї групи n=11	2,95±0,43	4,50±0,45	2,25*±0,14	18,81±0,41	20,73±0,55	16,23*±0,34
p_{1-4}	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p_{1-2}	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p_{2-3}	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примітка. * – $p < 0,05$ – вірогідність різниці показників до лікування і в кінці відновного періоду; p_{1-2} – вірогідність різниці показників між здоровими і хворими 1-ї групи до і в кінці лікування; p_{1-3} – вірогідність різниці показників між здоровими і хворими 2-ї групи до і в кінці лікування; p_{2-3} – вірогідність різниці показників між хворими 1-ї і 2-ї груп до і в кінці лікування; p_{1-4} – вірогідність різниці показників між здоровими і хворими 3-ї групи до і в кінці лікування; p_{2-4} – вірогідність різниці показників між хворими 1-ї і 3-ї груп до і в кінці лікування; p_{3-4} – вірогідність різниці показників між хворими 2-ї і 3-ї груп до і в кінці лікування.

антиоксиданта – вітаміну Е. Отримані дані наведено в таблиці 2.

При аналізі отриманих результатів встановлено, що середнє значення рівня природного антиоксиданта і антиоксидного ферменту у хворих на ожиріння із супровідною АГ нижче, ніж у здорових осіб ($p < 0,001$). У хворих 1-ї групи концентрація вітаміну Е складала ($9,80 \pm 0,20$) мкмоль/л ($p < 0,001$), тобто була нищою від рівня здорових осіб, і у міру зростання ступенів ожиріння і АГ вміст вітаміну Е ще більше зменшувався.

Аналіз даних, представлених в таблиці 2, показав, що у всіх групах хворих спостерігалось достовірне зниження активності СОД в крові порівняно з аналогічним показником контрольної групи. Найбільш виражене пригнічення активності оксидних ферментів виявлено у пацієнтів 2-ї і 3-ї груп (відповідно, на 12 і 10 %), що свідчить про виснаження АОС організму і накопичення продуктів ліпопероксидації. Проте важко відповісти на запитання, що є первинним: підвищення активності ПОЛ призводить до виснаження АОС чи, навпаки, виснаження активності антиоксидних ферментів сприяє накопиченню продуктів ліпопероксидації. Аналіз результатів дослідження в кінці розвантажувального періоду показав, що активність СОД зросла на 8 % ($p > 0,05$), а вміст вітаміну Е практично не змінився.

У процесі лікування спостерігалась тенденція до підвищення активності СОД, яка на період виписування із стаціонару становила у осіб 1-ї групи ($11,00 \pm 0,12$) % блокування, 2-ї –

($10,53 \pm 0,13$) % блокування, 3-ї – ($10,76 \pm 0,18$) % блокування, проте вміст вітаміну Е залишався порівняно низьким.

У процесі РДТ в поєднанні з пероральним прийманням вітаміну Е відбуваються зниження клініко-лабораторних проявів хвороби, маси тіла, нормалізація АТ, відновлення рівноваги в оксидно-антиоксидній системі.

Отже, при порівнянні результатів лікування було виявлено, що приймання вітаміну Е на фоні РДТ суттєво знижувало концентрацію продуктів ПОЛ і підвищувало антиоксидний потенціал. Активність антиоксидних ферментів, наприклад СОД, які відіграють ключову роль в інгібуванні продуктів ліпопероксидації та їх утилізації, значно зросла під впливом поєднаного застосування РДТ і вітаміну Е, це стосується і самого вітаміну Е, рівень якого досягав показника здорових осіб.

ВИСНОВКИ. 1. Активація процесів ліпопероксидації, зниження функціональної здатності антиоксидної системи захисту організму відіграють важливу роль у виникненні і прогресуванні ожиріння і артеріальної гіпертензії.

2. Встановлено пряму залежність між процесами ПОЛ, ступенем ожиріння і рівнем АТ: активність процесів ліпопероксидації зростала одночасно із збільшенням рівня АТ та ступеня ожиріння.

3. РДТ у поєднанні з вітаміном Е сприяє відновленню рівноваги в оксидно-антиоксидній системі й тим самим підвищує ефективність лікування даної патології.

Таблиця 2 – Динаміка показників системи антиоксидного захисту організму у хворих на ожиріння із супровідною артеріальною гіпертензією при проведенні розвантажувально-дієтичної терапії в поєднанні з вітаміном Е (M+m)

Група обстежених	СОД, %			Вітамін Е, мкмоль/л		
	до лікування	в кінці розвантажувального періоду	в кінці відновного періоду	до лікування	в кінці розвантажувального періоду	в кінці відновного періоду
Здорові n=20	11,08±0,21			21,14±0,63		
Хворі 1-ї групи n=14	9,82±0,20	8,22±0,14	11,02*±0,12	18,78±0,36	16,54±0,68	20,07*±0,56
p ₁₋₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Хворі 2-ї групи n=12	8,66±0,15	8,02±0,16	10,53*±0,13	17,34±0,10	15,72±0,34	19,06*±0,51
p ₁₋₃	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂₋₃	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Хворі 3-ї групи n=11	8,36±0,16	7,91±0,11	10,76*±0,18	17,19±0,33	15,53±0,02	18,98*±0,39
p ₁₋₄	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂₋₄	<0,001	<0,001	>0,01	<0,001	<0,001	<0,001
p ₃₋₄	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примітка. * – $p < 0,05$ – вірогідність різниці показників до лікування і в кінці відновного періоду; p_{1-2} – вірогідність різниці показників між здоровими і хворими 1-ї групи до і в кінці лікування; p_{1-3} – вірогідність різниці показників між здоровими і хворими 2-ї групи до і в кінці лікування; p_{2-3} – вірогідність різниці показників між хворими 1-ї і 2-ї груп до і в кінці лікування; p_{1-4} – вірогідність різниці показників між здоровими і хворими 3-ї групи до і в кінці лікування; p_{2-4} – вірогідність різниці показників між хворими 1-ї і 3-ї груп до і в кінці лікування; p_{3-4} – вірогідність різниці показників між хворими 2-ї і 3-ї груп до і в кінці лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аметов А.С. Ожирение – эпидемия XXI века // Тер. арх. – 2002. – **74**, № 10. – С. 5-7.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-36.
3. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-34.
4. Кузів П.П. Розвантажувально-дієтична терапія хронічних уражень гастроудоденальної зони // Врач. дело. – 1993. – № 1. – С. 61- 65.
5. Редисов А.С., Аркеляниц А.А., Юренев А.П. Патогенез артериальной гипертензии в рамках метаболического синдрома // Тер. арх. – 2003. – **75**, № 3. – С. 86-87.
6. Самсонов М.А., Николаев Ю.С., Кокосов А.А. и др. Методические рекомендации по дифференцированному применению метода разгрузочно-диетической терапии при некоторых внутренних и нервно-психических заболеваниях. – М., 1980. – 28 с.
7. Черняускане Р.У., Вершкявичене З.З., Грибоускас П.С. Одновременное флюорометрическое определение витаминов А и Е в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1984. – № 6. – С. 362-365.
8. Placer Z. Lipoperoxidation systema in biologischen Material 2, Mitt Bestimmung der Lipoperoxidation im sauetieror Organismus // Die Nahrung. – 1968. – **12**, № 6. – P. 679-684.

ВЛИЯНИЕ РАЗГРУЗОЧНО-ДИЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В СОЧЕТАНИИ С α -ТОКОФЕРОЛОМ НА УРОВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ОЖИРЕНИЕМ С СОПУТСТВУЮЩЕЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Ю.Ю. Дерпак

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

При лечении больных ожирением с сопутствующей артериальной гипертензией влияние разгрузочно-диетической терапии в сочетании с витамином Е на активность перекисного окисления липидов изучали по уровню в плазме крови диеновых конъюгат, малонового диальдегида, функциональное состояние антиоксидантной системы защиты оценивали по концентрации супероксиддисмутазы, токоферола. Проведенные исследования показали, что предложенный метод лечения позволяет в краткие сроки достичь снижения артериального давления, уменьшения массы тела, исчезновения симптоматики основного и ряда сопутствующих заболеваний, а также способствует возобновлению равновесия в оксидно-антиоксидантной системе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ожирение, артериальная гипертензия, разгрузочно-диетическая терапия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, витамин Е.

THE INFLUENCE OF FASTING DIETETIC THERAPY IN COMBINATION WITH α -TOCOPHEROL ON LIPID PEROXIDATION LEVEL IN BLOOD OF PATIENTS WITH OBESITY AND ACCOMPANIED ARTERIAL HYPERTENSION

Yu.Yu. Derpak

TERNOPIL STATE MEDICAL ACADEMY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The article presents the analysis of fasting-dietetic therapy efficacy in combination with vitamin E for treatment of obesity and hypertensive patients. Lipid peroxidation activity was assessed according to dien conjugate and malone dialdehyde level in the blood, the antioxidant protective system functional state being ascertained on the basis of recovered glutathione amount, oxidated glutathione level, tocopherol content. The observation revealed the given method to result in rapid arterial pressure decrease, body weight descent, symptomatology reduction of the main and accompanied impairments, to promote restoring oxidant-antioxidant system balance.

KEY WORDS: obesity, hypertension, fasting-dietetic therapy, lipid peroxidation, antioxidant system, vitamin E.

Отримано 26.06.2003 р.

Адреса для листування: Ю.Ю. Дерпак, вул. 15 Квітня, 1, кв. 249, Тернопіль, 46001, Україна.

ЗВ'ЯЗОК КОНЦЕНТРАЦІЇ ІОНІВ Ca^{2+} , K^+ , Na^+ З БІОЛОГІЧНОЮ ПОВНОЦІННІСТЮ СПЕРМАТОЗОЇДІВ

Г.В. Максимюк, Д.З. Воробець, Ю.Б. Борис, М.І. Бойко
ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Для іонів Ca^{2+} , K^+ , Na^+ в еякулятах сперми чоловіків високої та низької якості з низькою, середньою і високою концентраціями іонів K^+ встановлено наявність оберненого зв'язку: високий вміст іонів у плазмі, низький – у сперматозоїдах. Виявлено порушення співвідношення іонів у плазмі, сперматозоїдах та між плазмою і сперматозоїдами при патологічних процесах.

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

ВСТУП. Важливими ознаками розвитку патологічних процесів у статевих органах чоловіків є зменшення або збільшення оптимальних параметрів об'єму еякулятів, концентрації і рухливості сперматозоїдів, а також збільшення їх кількості із зміненою формою [3, 4]. Однак перераховані показники лише забезпечують реєстрацію змін біологічної повноцінності клітин і не розкривають механізму її зниження. Відомо, що іони Ca^{2+} відіграють провідну роль в акросомній реакції, рухливості сперматозоїдів, їх запліднювальній здатності, процесах сперматогенезу [5, 7, 12]. Концентрація Ca^{2+} та активність Ca^{2+} -транспортувальних систем тісно пов'язані з активністю Na^+ , K^+ -АТФази та інших Na^+ - і K^+ -транспортувальних систем [4, 8].

З огляду на це, а також на результати досліджень щодо індіферентного [1, 7], позитивного [6, 11] або негативного [4, 5, 9, 10, 12] впливу іонів макроелементів на якість сперми, метою наших досліджень було вивчення зв'язку між біологічною повноцінністю сперматозоїдів, і концентраціями іонів Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , їх співвідношеннями у плазмі, сперматозоїдах та між плазмою і сперматозоїдами.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сперму для досліджень брали в лабораторії Львівської обласної клінічної лікарні. В еякулятах за збережених необхідних умов визначали об'єм плазми, концентрацію, рухливість і кількість патологічних форм клітин [3].

© Г.В. Максимюк, Д.З. Воробець, Ю.Б. Борис – д.мед.н., М.І. Бойко – д.мед.н., 2003.

Від початкового об'єму відбирали 0,5 мл сперми. Сперматозоїди 5 хв фіксували 2 % водним розчином глутаральдегіду і методом центрифугування відокремлювали від плазми.

Отриману масу клітин гомогенізували, а до плазми і зруйнованих сперматозоїдів доливали по 4,5 мл дистильованої води. У дослідних пробах методом полум'яної фотометрії за методикою [2] визначали концентрацію іонів Ca^{2+} , K^+ , Na^+ .

Досліджували 263 еякуляти здорових і хворих чоловіків, вік яких становив 27-31 рік. Еякуляти за низьким, середнім та високим вмістом іонів K^+ у плазмі і сперматозоїдах розділили на три групи: НВК, СВК і ВВК [2]. Критерієм оцінки клітин були встановлені для еякулятів низької та високої якості середні показники концентрації іонів і їх співвідношень у плазмі, сперматозоїдах та між плазмою і сперматозоїдами. Відхилення від їх середніх значень характеризували абсолютними і відносними змінами.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали на персональному комп'ютері з використанням стандартних пакетів прикладних програм.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Розподіл еякулятів за концентраціями іонів K^+ зумовив таку їх кількість у групах: НВК – 123, СВК – 65 та ВВК – 75 штук, що, відповідно, становить 46, 25 і 29 % (рис. 1).

При цьому статистичний аналіз свідчить про вірогідність різниці між показниками низького, середнього і високого вмісту іонів у

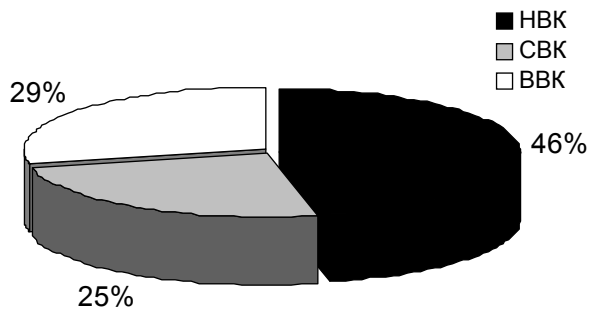


Рис. 1. Розподіл кількості еякуляторів за рівнем вмісту іонів K^+ .

плазмі, сперматозоїдах і спермі еякуляторів дослідних груп ($p < 0,001$). Концентрація іонів K^+ у плазмі становить 10, 17 і 25, у сперматозоїдах – 3, 4 і 6, а їх сумарний вміст у спермі – 13, 21 і 31 мМ/л (табл. 1). Це означає, що між рівнями калію у плазмі і сперматозоїдах існує обернений зв'язок, а саме: висока концентрація іонів у плазмі та низька – у сперматозоїдах.

Подібна ситуація, але при у 3 рази менших щодо іонів K^+ показниках, спостерігалася і з іонами Ca^{2+} . Їх рівень у плазмі становить $\pm 4, 7$ і 9, у сперматозоїдах – $\pm 1, 1$ і 2, а у спермі – $\pm 5, 8$ і 11 мМ/л. Крім того, в еякуляторах дослідних груп вектор збільшення вмісту іонів Ca^{2+} спрямований від низької концентрації іонів K^+ до високої. Це наводить на думку про існування запрограмованих організмом індивідуальних рівнів співвідношень іонів.

Вміст іонів Na^+ дещо інший, ніж іонів K^+ і Ca^{2+} . Так, у плазмі еякуляторів групи HBK їх середні значення становлять 68, 88 і 88, у сперматозоїдах – 21, 20 і 22, а у спермі – 89, 108 і 110 мМ, що, відповідно, у 3-7 разів більше, ніж іонів K^+ , і у 10-20 разів більше, ніж іонів Ca^{2+} . При цьому вміст іонів Na^+ у групах збільшується пропорційно до низької і високої концентрацій іонів K^+ , але якщо між кількістю іонів у сперматозоїдах еякуляторів груп HBK і ВВК встановлено достовірну різницю ($p < 0,001$), то у плазмі – лише тенденцію до неї ($p > 0,05$).

Таблиця 1 – Концентрація іонів Ca^{2+} , K^+ , Na^+ у плазмі і сперматозоїдах, мМ/л

Групи	Показники	Ca^{2+}		K^+		Na^+	
		плазма	клітина	плазма	клітина	плазма	клітина
HBK (n=123)	M \pm m	3,58 \pm 0,14	1,05 \pm 0,04	10,27 \pm 0,22	3,38 \pm 0,11	68,04 \pm 1,33	20,81 \pm 0,75
	lim	1-6	0,4-2,0	2-12	1-5	40-88	13-29
	C_v	44	45	25	37	23	42
	p 1:2	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	>0,2	<0,001
СВК (n=65)	M \pm m	6,84 \pm 0,22	1,17 \pm 0,05	17,47 \pm 0,21	4,34 \pm 0,11	88,00 \pm 1,37	19,90 \pm 0,57
	lim	2-9	1-2	9-21	2-6	61-117	11-28
	C_v	27	35	10	21	12	23
	p 2:3	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	>0,5
ВВК (n=75)	M \pm m	8,75 \pm 0,38	1,73 \pm 0,09	25,09 \pm 0,56	5,94 \pm 0,11	88,45 \pm 1,80	21,74 \pm 0,70
	lim	4-12	1-3	19-35	3-9	66-119	15-39
	C_v	34	38	17	18	16	25
	p 1:3	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,2	<0,001

До викладених даних, які ілюструють різні концентрації іонів Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , слід додати, що коефіцієнт їх варіації (C_v) коливається в межах 10-45 %. Крім того, неоднакові концентрації іонів в еякуляторах зумовлюють появу різних співвідношень іонів у плазмі, сперматозоїдах та між плазмою і сперматозоїдами.

Співвідношення $Na^+ : Ca^{2+}$ у плазмі еякуляторів групи HBK становить 17:1, СВК – 13:1 і ВВК – 10:1. Але його значення у сперматозоїдах більші й, відповідно, становлять 21:1, 20:1 і 11:1, а у спермі – 68:1, 88:1 і 44:1. Тобто числові вирази у групах HBK і СВК значно вищі, ніж у ВВК (табл. 2).

Для плазми співвідношення іонів $Na^+ : K^+$ у 2-3, а для сперматозоїдів та між плазмою і сперматозоїдами – у 3-4 рази менше, ніж іонів $Na^+ : Ca^{2+}$. Але характер змін числових виразів подібний. Вектор їх зниження у плазмі спрямований від 7:1 у групі HBK до 5:1 у СВК та до 3:1 у ВВК, у сперматозоїдах вони зменшуються, відповідно, від 7:1 до 5:1 та 4:1, а між плазмою і сперматозоїдами – від 23:1 до 22:1 і 15:1.

Ще нижчі показники визначено для співвідношень іонів $K^+ : Ca^{2+}$, які у 3-7 разів менші від числового виразу для іонів $Na^+ : Ca^{2+}$ та в 1-2 рази – для $Na^+ : K^+$. Однак у компонентах сперми, на відміну від різних співвідношень іонів $Na^+ : Ca^{2+}$ і $Na^+ : K^+$, встановлено майже однакові їх значення для іонів $K^+ : Ca^{2+}$. У плазмі вони не виходять за межу 2-3:1, у сперматозоїдах – дещо вищі (3-4:1), а між плазмою і сперматозоїдами у групі СВК становлять 17:1, у ВВК – 12:1 і у HBK – 10:1.

Між плазмою і сперматозоїдами еякуляторів групи СВК визначено найвище (7:1) співвідношення іонів Ca^{2+} . У групі ВВК воно дещо нижче (5:1), а у HBK – найнижче (4:1). Але числові вирази для іонів $Na^+ : Na^+$ і $K^+ : K^+$ однакові: у групах СВК і ВВК – 4:1, а у HBK – 3:1.

Показники біологічної повноцінності сперматозоїдів (табл. 3, рис. 2) свідчать про те, що

Таблиця 2 – Співвідношення іонів у групах еякулятів

Об'єкт	Іони	Групи		
		НБК	СВК	ВБК
Плазма	Na ⁺ :Ca ²⁺	17:1	13:1	10:1
	Na ⁺ :K ⁺	7:1	5:1	3:1
	K ⁺ :Ca ²⁺	3:1	2:1	3:1
Сперматозоїди	Na ⁺ :Ca ²⁺	21:1	20:1	11:1
	Na ⁺ :K ⁺	7:1	5:1	4:1
	K ⁺ :Ca ²⁺	3:1	4:1	3:1
Плазма:сперматозоїди	Na ⁺ :Ca ²⁺	68:1	88:1	44:1
	Na ⁺ :K ⁺	23:1	22:1	15:1
	K ⁺ :Ca ²⁺	10:1	17:1	12:1
	Ca ²⁺ :Ca ²⁺	4:1	7:1	5:1
	K ⁺ :K ⁺	3:1	4:1	4:1
	Na ⁺ :Na ⁺	3:1	4:1	4:1

Таблиця 3 – Розподіл кількості еякулятів високої і низької якості

Якість сперми	Об'єм еякулятів, мл		Концентрація сперматозоїдів, млн/мл		Кількість сперматозоїдів, %			
	2-4	<2, >4	60-120	<60, >120	рухливих	<70	патологічних	>30
НБК								
Висока, шт.	70	-	19	-	24	-	17	-
%	57	-	15	-	20	-	14	-
Низька, шт.	-	53	-	104	-	99	-	106
%	-	43	-	85	-	80	-	86
СВК								
Висока, шт.	38	-	16	-	13	-	6	-
%	59	-	25	-	20	-	9	-
Низька, шт.	-	27	-	49	-	52	-	59
%	-	41	-	75	-	80	-	91
ВБК								
Висока, шт.	34	-	20	-	14	-	11	-
%	45	-	27	-	19	-	15	-
Низька, шт.	-	41	-	55	-	61	-	64
%	-	-	-	73	-	81	-	85

групи НБК і СВК мають майже однакову кількість еякулятів оптимального об'єму (57 і 59 %), але у групі ВБК вона знижується до 45 %. Крім того, якщо число еякулятів малого об'єму у групах НБК, СВК і ВБК становить 35, 32 і 41 %, то великого – 13, 15 і 16 %. На нашу думку, велика кількість еякулятів малого об'єму при олігозооспермії є наслідком розвитку гіпофункції придаткових статевих залоз. До того ж, слід зауважити, що найбільше зниження об'єму виділеної плазми характерне для пацієнтів, у спермі яких визначили високий вміст іонів K⁺.

Розподіл кількості еякулятів за концентрацією клітин вказує на те, що чоловікам групи НБК властива найвища реакція спермієгенних тканин сім'яників на дію патологічного процесу. Так, якщо у групі НБК кількість еякулятів, із концентрацією сперматозоїдів понад 60 млн, становить лише 15 %, то у групах СВК і ВБК вона зростає до 25 і 27 %.

Про глибину розвитку патологічних процесів і високу чутливість генеративних тканин репродуктивних органів свідчить те, що 35-

46 % еякулятів вибірки мають концентрацію, меншу 10, а 65-54 % – більшу 11 млн клітин у 1 мл сперми.

У групах з низькою (<30 %), середньою (31-70 %) і високою (>70 %) рухливістю сперматозоїдів кількість еякулятів знижується від 27 % у групі НБК до 21 % у СВК та до 20 % у ВБК. Але у групі з середньою рухливістю клітин вона, відповідно, зростає до 66, 74 і 75 %, а з високою – зменшується до 7, 5 і 8 %. Тобто встановлені факти нерівномірного розподілу кількості еякулятів з неоднаковою рухливістю сперматозоїдів вказують, з одного боку, на глибину патологічних процесів у репродуктивних органах, а з іншого – на різну чутливість клітин до дії шкідливих чинників.

Про повну блокаду сперматогенезу свідчить також відсутність сперматозоїдів у 15 % еякулятів вибірки. Приблизно така ж їх частина містить 30-40 % клітин із зміненою формою, тобто генеративна функція репродуктивних органів пацієнтів перебуває в межах фізіологічної норми. Але 70-82 % еякулятів містять підвищені

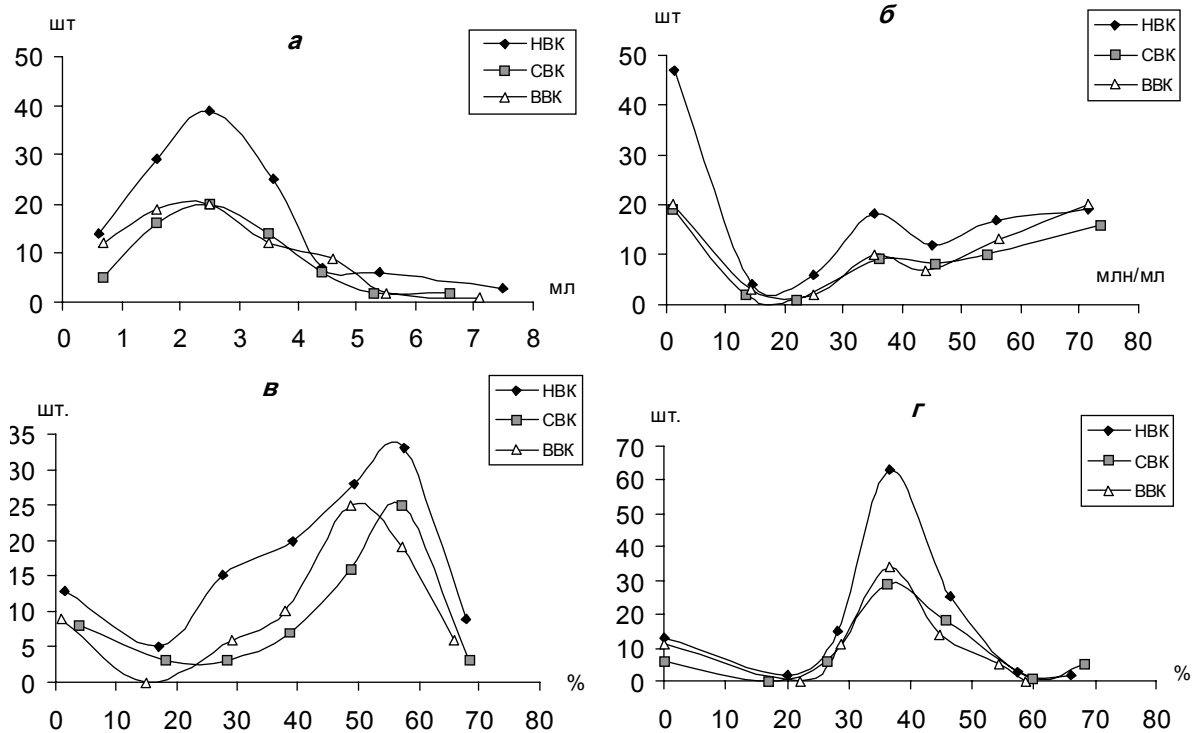


Рис. 2. Розподіл еякулятів високої і низької якості у групах: а – за об'ємом; б – за концентрацією; в – за рухливістю; г – за кількістю патологічних форм сперматозоїдів.

ну кількість патологічних форм сперматозоїдів, найбільше число яких встановлено у групі HBK.

ВИСНОВКИ. Аналіз відхилень від середніх величин концентрації іонів і їх співвідношень у плазмі, сперматозоїдах та між плазмою і сперматозоїдами показав, що:

- при збільшенні (>4) і зменшенні (<2 мл) об'єму виділених секретів у плазмі і клітинах еякулятів груп HBK і BVK підвищується або знижується вміст іонів Ca^{2+} і K^+ ;
- в еякулятах груп BVK і CBK з дуже низькою (<40) і дуже високою (>70 млн/мл) концентраціями сперматозоїдів змінюється лише вміст іонів K^+ ;
- при зменшенні рухливості сперматозоїдів нижче оптимальної межі (70-80 %) в

еякулятах груп HBK і BVK збільшується вміст іонів Ca^{2+} , K^+ , Na^+ ;

– збільшення кількості патологічних форм клітин (>30 %) сприяє накопиченню іонів Ca^{2+} і K^+ у плазмі та сперматозоїдах, але майже не змінює вмісту іонів Na^+ в еякулятах усіх груп.

Встановлені у спермі високої і низької якості рівні концентрації іонів підтверджуються значними абсолютними ($\pm 1-5$) і відносними ($\pm 8-24$) відхиленнями від середніх значень співвідношень іонів у плазмі, сперматозоїдах та між плазмою і сперматозоїдами. Однак слід зауважити, що зміни об'єму плазми і концентрації сперматозоїдів менше впливають на баланс іонів електролітів, ніж зниження рухливості та збільшення кількості патологічних форм клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрусишина І.М. Вплив гострого та хронічного введення малих доз свинцю на обмін електролітів у сперматозоїдах щурів // Журн. АМН України. – 1999. – 5, № 1. – С. 165-1713.
2. Зверева Г.В. Методики визначення концентрації макроелементів калію, натрію і кальцію у сперміях і плазмі сперми бугаїв методом полум'яної фото-

метрії // Нове в методах зоотехнічних досліджень. – 1992. – Ч.1. – С. 185-188.

3. Юнда І.Ф., Кушнирук Ю. И. Диагностика мужского бесплодия: Методические рекомендации. – К., 1973. – 24 с.

4. Abou-Shakra F.R., Ward N.J., Everard D.M. The role of trace elements in male infertility // Fertility &

Sterility. – 1989. – **52**, № 2. – P. 307-310.

5. Breitbart H., Rubinstein S., Nass-Arden L. The role of calcium and calcium ATPase in maintaining motility in ram spermatozoa // J. Biol. Chem. – 1985. – **260**. – P. 115-148.

6. Fraser L. Ionic control of sperm function // *Reprod. Fertil. Dev.* – 1995. – № 7 (4). – P. 905-925.

7. Hong C.Y., Chiang B., Kunj W., Fong J. Calcium antagonist stimulated human semen // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 1985. – **19**. – P. 45.

8. Palmerini C.A., Carlini E., Nicolurci A., Arienti G. Increase of human spermatozoa intracellular Ca²⁺ concentration after fusion with postosomes // *Cell Calcium.* – 1999. – **285**. – P. 291-296.

9. Raick D., Backland E., Levate J. Aguatitative

study ultrastructural spermatozoa defects in relation with infertility // *Prob. Reprod. Biol. Met. – Korger.* – 1992. – **15**. – P. 239-248.

10. Ratnasoorija W. D., Premakura G. Effects of the prostanoid receptor antagonist, D 1-4- phloretin phosphate, upon human sperm motility // *Contraception.* – 1992. – **45**. – P. 239-248.

11. Roldan E. R., Harrison R. A. Diacylglycerol and phosphatidate production and the exocytosis of the sperm acrosome // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1990. – **172**. – P. 8-15.

12. Umeyama T., Uchida H., Yoshimoto R. et al. Effects of a novel antihypertensive dry cilnidipine, on catecholamine secretion from differentiated PC/2 cells // *Hypertension.* – 1998. – **31**, № 5. – P. 1195-1199.

СВЯЗЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ Ca²⁺, K⁺, Na⁺ С БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПОЛНОЦЕННОСТЬЮ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Г.В. Максимюк, Д.З. Воробец, Ю.Б. Борис, М.И. Бойко

Львовский государственный медицинский университет им. Данила Галицкого

Резюме

Для ионов Ca²⁺, K⁺, Na⁺ в эякулятах спермы мужчин высокого и низкого качества с низкой, средней и высокой концентрациями ионов K⁺ установлено наличие обратной связи: высокое содержание ионов в плазме, низкое – в сперматозоидах. Обнаружено нарушение соотношения ионов в плазме, сперматозоидах и между плазмой и сперматозоидами при патологических процессах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **сперматозоиды, сперма, натрий, калий, кальций.**

CONNECTION BETWEEN CONCENTRATIONS OF Ca²⁺, K⁺, Na⁺ AND SPERMATOZOA BIOLOGICAL COMPETENCE

G.V. Maksymjuk, D.Z. Vorobets, Yu.B. Borys, M.I. Boyko

LVIV STATE MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

It was established feedback for Ca²⁺, K⁺, Na⁺ ions in human sperm of high and poor quality with low, average and high K⁺ concentration: when K⁺ ion concentration in plasma was high, then K⁺ ion concentration in spermatozoa was low. It was found infringement of ions parity in plasma and spermatozoa at pathological processes.

KEY WORDS: **spermatozoa, sperm, sodium, potassium, calcium.**

Отримано 24.07.2003 р.

Адреса для листування: Д.З. Воробець, ЛДМУ ім. Данила Галицького, кафедра медичної біології, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ОКСИДНО-АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ОБСТРУКТИВНИЙ БРОНХІТ ПІД ВПЛИВОМ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ ТЕРАПІЇ

О.І. Решетар

УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У роботі проаналізовано динаміку показників перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидного захисту у хворих на хронічний обструктивний бронхіт під впливом ультразвукової терапії. При госпіталізації хворих у стаціонар виявлено порушення рівноваги в системі "перекисне окиснення ліпідів – антиоксидний захист": активація процесів переокиснення ліпідів на тлі пригніченої активності ферментів антиоксидного захисту і дисбалансу в глутатіоновій редокс-системі. Застосування ультразвукової терапії викликає позитивну динаміку в напрямку стабілізації процесів переокиснення ліпідів та підвищення антирадикальних захисних властивостей.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, ультразвукова терапія, хронічний обструктивний бронхіт.

ВСТУП. Одним з найбільш поширених захворювань органів дихання є хронічний обструктивний бронхіт (ХОБ) [2, 3]. Відмічається зростання захворюваності з року в рік (часті загострення, нетривала ремісія, швидке прогресування та розвиток ускладнень, системний характер). При сучасному епідеміологічному характері поширеності ХОБ відсутній єдиний погляд на патогенетичні механізми розвитку бронхіту, що перешкоджає розробці раціонального алгоритму лікування [12]. У розвитку клінічних проявів захворювання надзвичайну роль відіграють адаптаційні можливості організму, які знижуються під дією стресу, на фоні гіпоксії, змін венолегенового кровотоку, системного та місцевого імунітету, інтенсивності автоімунних реакцій, порушень мукоциліарного кліренсу, патологічних змін перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидної системи (АОС) [4, 14, 15].

Сучасна тактика лікування ХОБ базується на результатах обстеження хворого і зумовлена переважаючою симптоматикою, станом функції зовнішнього дихання, кровообігу, станом біохімічних показників, імунологічної реактивності тощо. Лікування проводиться комплексно, включає методи етіопатогенетичної та симптоматичної терапії, які спрямовані на зменшення

запального процесу в бронхах, відновлення бронхолегеневої прохідності, корекцію порушень імунної системи [9, 13, 15]. Водночас тривала бронхоспазмолітична і протизапальна терапія нерідко призводить до розвитку побічних реакцій, що визначають необхідність розробки нових немедикаментозних методів корекції [5, 6, 10].

Перспективною в цьому напрямку є розробка таких нових лікувальних комплексів, за допомогою яких можливі суттєве підвищення адаптативних можливостей і вегетативне забезпечення різних фізіологічних функцій організму. Звичайно в даному випадку використовується поєднане лікування за допомогою як медикаментозних, так і немедикаментозних методів. Особливий інтерес в цьому відношенні викликає поєднане застосування немедикаментозних методів, електромагнітного випромінювання, лазера, ультразвукових коливань [1, 7, 8, 9, 16, 17].

Доведено, що вищевказані фізичні чинники активно впливають на серцево-судинну систему, проникність клітинних мембран, реологічні властивості і згортання крові, мікроциркуляцію [6, 10, 15].

Метою роботи було вивчити особливості впливу ультразвукової терапії (УЗТ) на зміни процесів в системі "ПОЛ-АОС" у хворих на ХОБ.

© О.І. Решетар, 2003.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 68 хворих на ХОБ, які проходили курс стаціонарного лікування в пульмонологічному відділенні Ужгородської обласної клінічної лікарні. Середній вік пацієнтів становив $(39,4 \pm 2,4)$ року. Тривалість захворювання – від 1-го до 10-ти років. Усіх обстежуваних розділено на 2 групи. 1-шу групу склали 44 хворих, які лікувалися за загальноприйнятою схемою – бронхолітики, мукорегулятори, антигістамінні препарати та антибіотики за показаннями. Фізіотерапевтичні процедури включали інгаляції, електрофорез, дихальну гімнастику, лікувальну фізкультуру. До 2-ї групи ввійшли 22 особи, в яких вищевказане лікування поєднували з ультразвуковою терапією. Лікування проводили за допомогою ультразвукового терапевтичного апарату УЗТ-101, що генерує ультразвукові коливання частотою 880 кГц з використанням випромінювачів площею 4 см². Ультразвуком впливали в безперервному режимі за лабільною методикою на дві пари полів. Спочатку – на паравертебральні зони з обох боків на рівні Th4-Th12 з інтенсивністю 0,2 Вт/см², а потім – на задньобоківі поверхні грудної клітки по ходу 6-8 міжреберних проміжків від паравертебральної до середньої пахвинної лінії з такою ж інтенсивністю ультразвуку. Тривалість сеансу складала 2 хв на кожне поле, курс лікування включав 12 щоденних процедур.

Дослідження стану процесів ПОЛ полягало у визначенні різних продуктів ліпопероксидації: первинних – дієнових кон'югатів (ДК), проміжних – гідропероксидів (ГП) та кінцевого – малонового діальдегіду (МДА), а також рівня ізольованих подвійних зв'язків (ІПЗ). Про стан АОС судили за активністю таких ферментів, як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатіонредуктаза (ГР), вмістом церулоплазміну (ЦП) та рівнем глутатіону відновленого (ГВ). Усі показники визначали в еритроцитах за методикою [11] при госпіталізації в стаціонар та після лікування. Кров для досліджень брали вранці натще з ліктьової вени в присутності ЕДТА. Вимірювання проводили за допомогою спектрофотометра СФ-46. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали з використанням t-критерію Стьюдента. Достовірними вважалися зміни при $p < 0,05$. Отримані дані порівнювали з аналогічними показниками у 30 здорових осіб.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Детальний аналіз проведених досліджень в практично здорових людей показав, що в крові виявлено певні рівні продуктів ПОЛ та визначено певну

активність ферментів антиоксидного захисту (табл. 1, 2).

У хворих на ХОБ обох груп при госпіталізації в клініку виявлено суттєві порушення в системі "ПОЛ-АОЗ". Перш за все привертають до себе увагу активація процесів ПОЛ та пригнічення антиоксидної активності. У більшого відсотка всіх обстежених хворих спостерігається надлишкове накопичення первинних, вторинних та кінцевого продуктів ПОЛ (більш ніж в 1,3-1,7 раза порівняно з нормою). Рівень ІПЗ у пацієнтів обох груп був однаково високим (у середньому $(3,51 \pm 0,19)$ відн. од.), що на 34,4 % більше показників норми. Виявлено суттєве зростання вмісту ДК (в 1,3 раза) та ГП (в 1,4 раза) у хворих обох груп порівняно з таким у здорових осіб. Рівень кінцевого продукту ПОЛ – МДА у пацієнтів 2-ї групи вірогідно вищий за показники у донорів (табл. 1).

Відмічено достовірне зниження активності СОД та КАТ у хворих обох груп порівняно з нормою (табл. 2). У 82 % пацієнтів обох груп активність СОД була меншою в 2 рази порівняно з такою у здорових осіб і складала $(2,11 \pm 0,10)$ од./мгНв ($p < 0,001$) і $(2,35 \pm 0,17)$ од./мгНв ($p < 0,001$). У 67 % хворих 1-ї групи та у 50 % – 2-ї відмічено знижену, порівняно з нормою, активність – КАТ в 1,6 та 1,9 раза відповідно. Виявлено дисбаланс між показниками глутатіонової системи. Практично у всіх обстежених (у 92 % хворих 1-ї групи і у 98 % пацієнтів 2-ї групи) вміст ГВ був вірогідно нижчим, порівняно з нормою. У 93 % хворих 1-ї групи та у 82 % – 2-ї активність ГР була високою і складала, відповідно, $(942,0 \pm 18,0)$ мкмоль/л·хв ($p < 0,001$) і $(938,0 \pm 23,7)$ мкмоль/л·хв ($p < 0,001$). Незважаючи на те, що, за середньостатистичними даними, вміст ЦП знаходився в межах значень норми, частота виявлення осіб з низькими його показниками була високою і складала 61 % у хворих 1-ї групи ($(20,80 \pm 0,62)$ мг%, $p < 0,001$) та 41 % серед пацієнтів 2-ї групи ($(23,30 \pm 1,01)$ мг%, $p < 0,02$).

Значне зниження активності СОД та КАТ зумовило низькі значення інтегрального показника антиоксидної активності організму – фактора АОЗ, показники якого достовірно менші, ніж у донорів. Так, у 84 та 86 % хворих обох груп даний показник був нижчим, порівняно з донорами, у 3,9 раза ($p < 0,001$).

Отже, у хворих на ХОБ до лікування виявлено активацію процесів ПОЛ на фоні пригнічення активності ферментів АОЗ. Зниження ємності антиоксидного пулу свідчить про наявність оксидативного стресу, який призводить до вищевказаних порушень на мембранному рівні.

Встановлено, що загальноприйнята терапія ХОБ призводить до клінічного покращання, але майже не впливає на процеси ПОЛ та активність ферментів АОЗ. Так, після проведеного курсу лікування виявлено зниження вмісту ГП ($p < 0,01$) і МДА ($p < 0,05$), а інші показники процесу ПОЛ залишились в межах значень до лікування. Це підтверджується тим, що у більшій половини хворих рівень ІПЗ та ДК залишився високим і склав: ІПЗ – $(3,75 \pm 0,22)$ відн. од. ($p < 0,001$); ДК – $(1,80 \pm 0,05)$ відн. од. ($p < 0,001$), що на 42 і 41,7 % відповідно вище за показники у практично здорових людей та на 17,2 ($p < 0,1$) і 21,6 % ($p < 0,05$) більше за середні показники по всій групі.

Щодо активності ферментів АОЗ, то спостерігається інша закономірність. Якщо активність СОД вірогідно зростає в 1,3 раза, то активність КАТ і ЦП (хоч значення їх дещо менші – на 12,5 і на 6,6 % відповідно проти таких же до лікування) залишається на нижній межі значень норми. Водночас рівень ГВ стосовно донорів залишився низьким ($p < 0,001$), але по відношенню до показника до лікування підвищився ($p < 0,01$). Активність ГР знижується ($p < 0,01$), але не досягає значень норми. У 37 (83 %) хворих зареєстровано високі її значення ($(860,0 \pm 93,9)$ мкмоль/л·хв, $p < 0,01$).

Слід відмітити, що інтегральний показник – фактор АОЗ – після проведеного курсу ліку-

Таблиця. 1 – Показники перекисного окиснення ліпідів крові хворих на хронічний обструктивний бронхіт

Показники ПОЛ	Контрольна група N=30	1-ша група		2-га група	
		до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
ІПЗ, відн. од. p_0	$2,61 \pm 0,14$	$3,47 \pm 0,17$ <0,001	$3,21 \pm 0,14$ <0,02	$3,55 \pm 0,22$ <0,001	$3,08 \pm 0,2$ <0,001
ДК відн. од. p_0	$1,27 \pm 0,08$	$1,65 \pm 0,07$ <0,001	$1,48 \pm 0,07$ <0,05	$1,71 \pm 0,11$ <0,001	$1,57 \pm 0,07$ <0,01
ГП, відн. од. p_0 p_1 p_3	$0,61 \pm 0,04$	$0,78 \pm 0,04$ <0,01	$0,61 \pm 0,04$ <0,01	$0,83 \pm 0,08$ <0,05	$0,73 \pm 0,03$ <0,05 <0,05
МДА, нмоль/мл, p_0 p_1 p_2	$3,40 \pm 0,21$	$4,40 \pm 0,23$ <0,001	$3,83 \pm 0,13$ <0,05	$5,20 \pm 0,35$ <0,001 <0,05	$3,74 \pm 0,2$ <0,01

Примітка. p_0 – достовірність відмінності порівняно з контролем;
 p_1 – достовірність відмінності до та після лікування;
 p_2 – достовірність відмінності між групами до лікування;
 p_3 – достовірність відмінності між групами після лікування.

Таблиця 2 – Активність факторів антиоксидного захисту в еритроцитах крові хворих на хронічний обструктивний бронхіт

Показники ПОЛ	Контрольна група n=30	1-ша група		2-га група	
		до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
СОД, од/мгНв p_0	$4,14 \pm 0,36$	$2,67 \pm 0,20$ <0,001	$3,41 \pm 0,21$ <0,02	$2,91 \pm 0,32$ <0,001	$4,02 \pm 0,21$ <0,01
КАТ, мкмоль/хвНвмг p_0	$1420,0 \pm 68,0$	$1166,0 \pm 67,0$ <0,01	$1243,0 \pm 39,0$ <0,02	$1101,0 \pm 103,5$ <0,02	$1291,0 \pm 51,7$
ЦП, мг% p_0	$31,6 \pm 2,8$	$27,30 \pm 1,08$	$27,50 \pm 1,04$ <0,05	$30,20 \pm 1,92$	$30,80 \pm 1,47$
ГВ, мкмоль/л p_0 p_1	$587,0 \pm 18,0$	$413,0 \pm 10,0$ <0,001	$453,0 \pm 11,0$ <0,001	$400,1 \pm 15,0$ <0,001	$489 \pm 21,0$ <0,001 <0,02
ГР, мкмоль/хв·л p_0 p_1	$693,0 \pm 18,0$	$909,0 \pm 18,0$ <0,001	$834,0 \pm 16,0$ <0,01	$894,0 \pm 28,0$ <0,001	$775 \pm 22,0$ <0,02 <0,01
фактор АОЗ, відн.од. p_0 p_1	$2185,0 \pm 202,0$	$850,0 \pm 113,0$ <0,001	$1195,0 \pm 120,0$ <0,001	798 ± 156 <0,001	1587 ± 195 <0,01

Примітка. p_0 – достовірність відмінності порівняно з контролем;
 p_1 – достовірність відмінності до та після лікування.

вання у 35 (80 %) пацієнтів залишився низьким ((903,0±61,2) ум. од. $p < 0,001$).

Виявлену нами нестабільність у системі АОЗ можна пояснити порушенням компенсаторних реакцій у хворих з патологією, що є одним із чинників частих рецидивів.

Використання традиційного лікування в поєднанні з УЗТ більш ефективно впливає на стан АОС. В 1,4 раза підвищується активність СОД, в 1,2 раза – вміст ГВ, в 2 рази зростає значення фактора АОЗ та в 1,2 раза знижується висока активність ГР. Відмічено достовірну відмінність у позитивній динаміці між групами. Активність СОД, рівень ГВ та значення фактора АОЗ у хворих 2-ї групи після лікування в 1,1-1,3 раза вищі порівняно з пацієнтами 1-ї групи. Необхідно відмітити, що нормалізація вищевказаних показників АОЗ гальмує процеси ПОЛ. У хворих суттєво знизився вміст ГП та кінцевого продукту – МДА. Що стосується інших показників ПОЛ, то вони залишились на вихідному рівні (табл. 1).

Необхідно відмітити, що після лікування відсоток осіб з високим вмістом продуктів ПОЛ (в 1,3-1,7 раза) в кожній групі великий і вірогідної відмінності між групами не виявлено.

Таким чином, порівняльний аналіз отриманих результатів свідчить про те, що застосування описаних лікувальних комплексів зумовлює неоднакову ефективність їх впливу на метаболічні процеси в системі "ПОЛ-АОЗ". Дослідження показало, що використання ба-

зисної терапії сприяє тільки частковому відновленню дисбалансу в даній системі за рахунок деякого зниження рівнів продуктів ПОЛ та підвищення активності АОЗ. УЗТ чинить більш виражений коригувальний ефект з нормалізацією показників системи АОЗ.

Наведені результати досліджень мають важливе значення для розробки перспективних підходів до лікування хронічних обструктивних захворювань легень, передусім ХОБ. З одного боку, показники ПОЛ віддзеркалюють рівень патологічних змін в організмі при даній патології, а з іншого – зміни їх інтенсивності значною мірою свідчать про ефективність УЗТ, при застосуванні якої покращились біохімічні показники порівняно з їх рівнем до лікування.

ВИСНОВКИ. ХОБ супроводжується суттєвими змінами в інтенсивності й напрямку обмінних реакцій, маркером яких є надлишкове накопичення продуктів ПОЛ та пригнічення антиоксидантної активності. При базовій терапії відновлення досліджуваних показників метаболічного процесу в організмі до нормальних величин нами не виявлено. Застосування УЗТ в комплексному лікуванні зумовлює більш виражений коригувальний ефект з нормалізацією показників АОЗ. Дослідження процесів ПОЛ та активності АОС у хворих на ХОБ можна рекомендувати як додатковий критерій у діагностиці та прогнозуванні перебігу даної патології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бриль Г.Е. Проблемы лазерной медицины // Матер. IV Междунар. конгресса. – Москва-Видное, 1997. – С. 160-161.

2. Говдалюк А.Л. Роль фенотипа, протеазно-антипротеазной, оксидантно-антиоксидантной систем организма в развитии острой пневмонии у детей // Мед. реабилитация, курортология и физиотерапия. – 1998. – № 3 (15). – С. 40-42.

3. Голева О.П., Ветков В.И. Медико-социальные аспекты смертности взрослого населения от хронического бронхита // V Национальный конгресс по болезням органов дыхания. – Москва, 1995. – С. 131-153.

4. Демченко О.А. Клініко-імунологічна ефективність ербісолу в комплексному лікуванні хворих на хронічний обструктивний бронхіт з наявністю атрофії слизової оболонки бронхів // Укр. пульмонолог. журнал. – 1999. – № 2. – С. 39-41.

5. Дзюблик А.Я., Мухин А.А., Недлинская Н.Н. и др. Немедикаментозные методы лечения неспецифических заболеваний легких // Укр. пульмонолог. журн. – 1993. – № 1. – С. 33-36.

6. Дзюблик А.Я. Принципы и эффективность немедикаментозных методов лечения больных хроническим бронхитом: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – К., 1990. – 37 с.

7. Золотарева Т.А., Олешко А.Я., Алексеенко Н.А., Олешко Т.И. Экспериментальное исследование особенностей антиоксидантного эффекта физических лечебных факторов // Мед. реабилитация, курортология, физиотерапия. – 2001. – № 2. – С. 30-33.

8. Игнатова Г.Л., Волчегорский И.А., Волкова Э.Т. Состояние процессов перекисного окисления липидов при хроническом бронхите // Междунар. мед. журн. – 1998. – № 3. – С. 36-37.

9. Капитан Г.Б. Медико-биологические аспекты применения электромагнитных волн крайне высокой частоты в пульмонологии // Пульмонолог. – 2000. – № 4. – С. 11-15.

10. Ковальчук А.А., Ковальчук Т.А., Демидова Н.Г. Немедикаментозные методы лечения больных профессиональным бронхитом // Укр. пульмонолог. журн. – 1994. – № 3. – С. 45-48.

11. Овсянникова Л.М., Альохіна С.М., Дробінська О.В. та ін. Біохімічні та біофізичні методи оцінки окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС // Метод. рекомендації. – К., 1999. – 18 с.

12. Фещенко Ю.І. Сучасні проблеми пульмонології // Укр. пульмонолог. журн. – 1997. – № 2. – С. 3-8.

13. Фещенко Ю.І., Яшина Л.А. Хронический обструктивный бронхит // Лікування та діагностика. –

1998. – № 3. – С. 27-31.

14. Чучалин А.Г. Биологические маркеры бронхиальной астмы и хронического бронхита // Пульмонология. – 1997. – № 3. – С. 5-6.

15. Шестакова Т.М., Христинич Т.М. Хронічний бронхіт у осіб похилого та старечого віку: особливості епідеміології, патогенезу, діагностики та реабілітації // Укр. пульмонолог. журн. – 2002. – № 2. – С. 58-62.

16. Щегольков А.М., Клячкин Л.М., Ярошенко В.П., Клячкина И.Л. Лазеротерапия в пульмонологии // Укр. пульмонолог. журн. – 1995. – № 2(8). – С. 11-17.

17. Якименко І.Л., Сидорик Є.П. Регуляторна дія низькоінтенсивного лазерного випромінювання на стан антиоксидантної системи організму // Укр. біохім. журн. – 2001. – № 1. – С. 1-17.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИДНО-АНТИОКСИДНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ БРОНХИТОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ТЕРАПИИ

А.И. Решетар

УЖГОРОДСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

В работе проанализирована динамика показателей перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной защиты у больных хроническим обструктивным бронхитом под влиянием ультразвуковой терапии. При госпитализации больных в стационарах выявлены нарушения равновесия в системе "перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита": активация процессов перекисления липидов на фоне подавленной активности ферментов антиоксидантной защиты и дисбаланса в глутатионовой редокс-системе. Применение ультразвуковой терапии вызывает положительную динамику в направлении стабилизации процессов перекисления липидов и повышение антирадикальных защитных свойств.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, ультразвуковая терапия, хронический обструктивный бронхит.

CHANGES OF INDICES OF OXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE BRONCHITIS UNDER INFLUENCE OF ULTRASONIC THERAPY

A.I. Reshetar

UZHGOROD NATIONAL UNIVERSITY

Summary

The dynamics of lipid peroxidation indices and activity of antioxidative enzymes in patients with chronic obstructive bronchitis is analysed in the work. Before treatment the disbalance in system "lipid peroxidation – antioxidant protection" are revealed. The application of ultrasonic therapy causes the positive changes of investigated parameters.

KEY WORDS: lipid peroxidation, antioxidant protection, ultrasonic therapy, chronic obstructive bronchitis.

Отримано 25.03.2003 р.

Адреса для листування: О.І. Решетар, кафедра біохімії з курсом інфекційних хвороб, медичний факультет, Ужгородський національний університет, вул. Народна, 1, Ужгород, 88000, Україна.

ВЗАЄМОДІЯ N,N'-ДИБЕНЗИЛАМІДУ БРОММАЛОНОВОЇ КИСЛОТИ З БІФУНКЦІОНАЛЬНИМИ АМІНАМИ – ШЛЯХ ДО НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

В.А. Георгіянц, І.А. Сич

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено реакцію N,N'-добензиламідом броммалонової кислоти з біфункціональними амінами – похідними 2-амінопіридину, 2-амінотіазолу та о-фенілендіаміну. Взаємодія з похідними 2-амінопіридину відбувається через стадію утворення ілідів піридинію і призводить до виникнення відповідних бензиламідів 2-оксо-7-метилімідазо[1,2-а]піридин-3-карбонових кислот. Аналогічними є механізм реакції та кінцевий продукт взаємодії з 4-феніл-2-амінотіазолом.

о-Фенілендіамін реагує з N,N'-добензиламідом броммалонової кислоти з утворенням бензиламідом 2-гідроксихіноксалін-3-карбонової кислоти. Використання як алкілувального агента дибромпохідної призводить до отримання N,N'-добензиламідом бензімідазолін-2,2-дикарбонової кислоти.

Будову одержаних речовин доводили за допомогою елементного аналізу, даних спектроскопії ПМР та мас-спектрометрії. Фармакологічний скринінг синтезованих речовин показав, що бензиламід 2-гідроксихіноксалін-3-карбонової кислоти має помірну нейролептичну активність, а також значну діуретичну, анальгетичну та протизапальну, що є на рівні з препаратами порівняння.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: N,N'-добензиламід броммалонової кислоти, біфункціональні аміни, взаємодія, елементний аналіз, спектроскопія ПМР, мас-спектрометрія.

ВСТУП. Для поширення низки сучасних лікарських засобів кожного року синтезують чималу кількість нових органічних речовин. Пошук засобів, що діють на центральну нервову систему, проводять серед похідних малонової кислоти дуже давно та досить плідно. Нами вже знайдено ефективні засоби, що здатні захищати тварин від судом, викликаних хімічними агентами та електричним струмом, серед похідних N,N'-добензиламідом малонової кислоти із заміщеною метиленовою групою [2, 6, 7].

Перспективним напрямком сучасної фармацевтичної хімії є дослідження та створення синтетичних аналогів амінокислот. Серед них виявлено численні нейротропні речовини, які можуть з успіхом використовуватися в медичній практиці для лікування різноманітних розладів центральної нервової системи [11, 12, 15, 17]. Шляхом взаємодії N,N'-добензиламідом броммалонової кислоти з ароматичними та аліфатичними амінами нами раніше було отримано похідні аміномалонової кислоти, що чинили нейролептичну, протисудомну та місцево-анестезувальну дію, які в ряді випадків перевищували дію препаратів порівняння [4, 5, 9].

© В.А. Георгіянц, І.А. Сич, 2003.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як продовження наведених вище досліджень ми вводили у взаємодію з N,N'-добензиламідом броммалонової кислоти (1) біфункціональні аміни. У літературі [10] існують дані про те, що реакція діетилмалонату з 2-амінопіридином призводить до утворення з високим виходом 1,8-нафтиридин-2,4-діону, який існує у двох таутомерних формах. Однак наявність у вихідному діаміді (1) атому галогену та висока основність гетероциклічного азота 2-амінопіридину дали нам змогу передбачити перебіг реакції через кватернізацію піридину. Згідно з цим, взаємодія з 2-амінопіридином (2a) та 4-метил-2-амінопіридином (2b) призвела на першій стадії до утворення відповідних ілідів піридинію (3a, 3b). Кватернізовані піридини були піддані циклізації у присутності основ в середовищі диметилформамідом (схема 1). При цьому відбувається реакція внутрішньомолекулярного переамідування з елімінацією одного залишку бензиламіну й утворенням відповідних імідазопіридинів (4a, 4b).

Такий перебіг реакції узгоджується з даними літератури [13] та підтверджується спектральними дослідженнями синтезованих речовин.

За таких же умов було введено у взаємодію з N,N'-добензиламідом броммалонової кислоти (1) 4-феніл-2-амінотіазолом (5). Оскільки хімічні властивості 2-амінотіазолу є дуже близькими до властивостей 2-амінопіридину, реакція перебігала в тому ж напрямку і призвела до утворення імідазотіазолу (7) за схемою 2. Однак при взаємодії цих речовин нам не вдалось виділити проміжний ілід тіазолію (6). Ймовірно, аміногрупа утвореної солі (6) одразу вступає в реакцію переамідування з бензиламідним угрупованням.

Слід зазначити, що такий результат спостерігався раніше [1] при взаємодії галогенкетоні 2-галоїдопіридинами внаслідок дуже великої швидкості депротонування та конденсації проміжної солі.

Для доведення будови синтезованих сполук ми використовували методи спектроскопії ПМР, а також мас-спектрометрії. Мас-спектри підтвердили молекулярну масу імідазотіазолу (7) та імідазопіридинів (4а,б) – на всіх спектрах був присутній пік, що відповідає молекулярним іонам. Набір сигналів на спектрах ПМР синтезованих речовин відповідає всім функціональним групам, що містять водень (експеримен-

тальна частина) [8, 17]. Використавши проведені раніше дослідження оксазол[3,2-а]піридинів [1], ми віднесли сигнали ароматичних протонів таким чином: дублет при 9,43 м.д. відповідає протону Нз, синглет при 7,32 м.д., згідно зі своєю інтенсивністю, інтерпретується як бензиламідний залишок, синглет при 7,15 м.д. проявляється завдяки протону Нg, дублет при 7,05 м.д. – Н6.

Дуже цікавою є поведінка в різних реакціях о-фенілендіаміну (8). В літературі [15] описано взаємодію діетилброммалонату з о-фенілендіаміном в етанолі, в результаті якої було отримано етиловий ефір 2-гідрокси-хіноксалін-3-карбонової кислоти. Тому при взаємодії цього діаміну з N,N'-добензиламідом броммалонової кислоти (1) ми очікували утворення подібного продукту. Механізм такої реакції вірогідно є подібним до механізму наведених реакцій з 2-амінотіазолом та 2-амінопіридинами. Продуктом цієї реакції став бензиламід 2-гідроксихіноксалін-3-карбонової кислоти (9) (схема 3). Цікаво було простежити поведінку о-фенілендіаміну в реакції з дигалогенопохідною маленової кислоти. Для цього ми синтезували N,N'-добензиламід диброммалонової кислоти

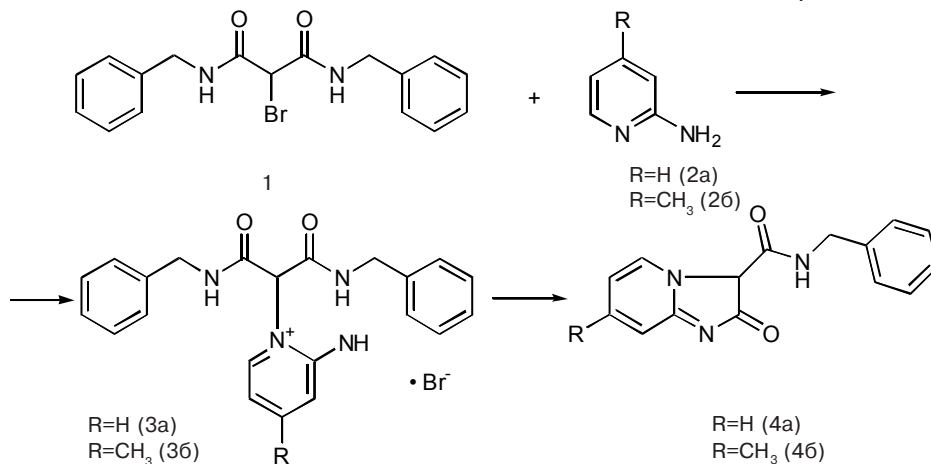


Схема 1. Синтез імідазопіридинів N,N'-добензиламідом броммалонової кислоти та біфункціональних амінів.

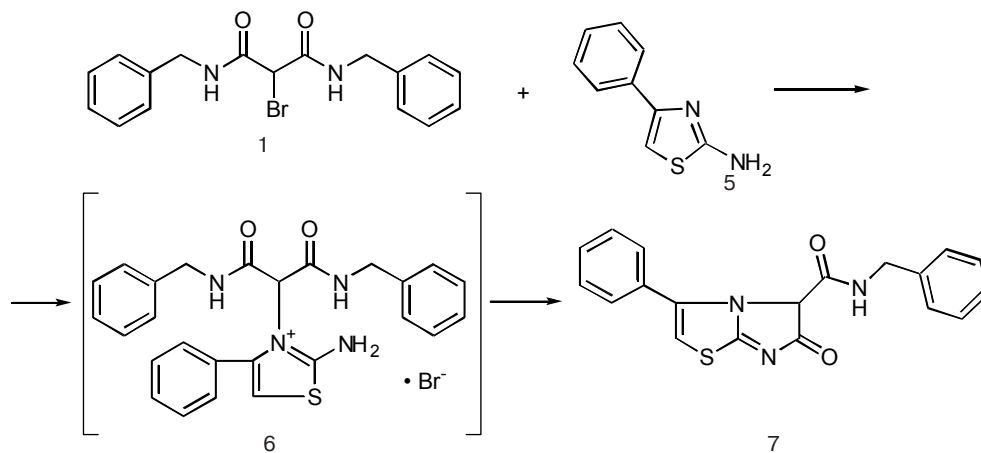


Схема 2. Одержання імідазотіазолу (7).

(10) [3]. У результаті наступної взаємодії отриманої сполуки (10) з о-фенілендіаміном (8) нами було одержано з високим виходом речовину, будову якої за допомогою спектральних досліджень інтерпретовано як N,N'-добензиламід бензімідазолін-2,2-дикарбонової кислоти (11).

Спектри ПМР бензиламіду 2-гідрокси-хіноксалін-3-карбонової кислоти (9) та бензімідазольної похідної (11) узгоджуються з даними літератури [8, 14]. На мас-спектрах синтезованих речовин (9, 11) спостерігаються піки, що відповідають молекулярним іонам.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА. Спектри ПМР знімали на приладі "Bruker WP-100 SY" (ФРН), розчинник – ДМСО-D6, робоча частота – 100 МГц, хімічні зсуви наведено на шкалі δ відносно ТМС (внутрішній стандарт).

Мас-спектрометричний аналіз виконували на приладі MI-1201 Є (НПО "Електрон", Україна). Проводили реєстрацію іонів з позитивним зарядом.

Дані елементного аналізу відповідали розрахованим.

1-ди(бензиламінокарбоніл)-метил-2-амінопіридиній бромід (3а)

До розчину 1,8 г (0,005 моль) добензиламіду броммалонової кислоти (1) додають 0,47 г (0,005 моль) 2-амінопіридину (2а) та кип'яють зі зворотним холодильником. Через 2 год піридинієву сіль, що утворилась, відфільтровують із гарячого реакційного середовища, і сушать.

Вихід – 2,27 г (кількісний). Температура плавлення більша 300 °С, C₂₂H₂₃BrN₄O₂. М.м. 455 (мас-спектр).

1-ди(бензиламінокарбоніл)-метил-2-аміно-4-метилпіридиній бромід (3б)

Отримано аналогічно 2а.

Вихід кількісний. Температура плавлення більша 300 °С, C₂₃H₂₅BrN₄O₂.

М.м. 469 (мас-спектр).

Бензиламід 2-оксо-імідазо[1,2-а]піридин-3-карбонової кислоти (4а)

2,27 г (0,005 моль) 1-ди(бензиламінокарбонілметил)-2-амінопіридиній броміду (3а) змішують з 20 мг ДМФА та 3 мл триетиламіну. Кип'яють зі зворотним холодильником до розчинення осаду (протягом 6 годин). Після цього реакційну суміш розбавляють водою. Випавший осад відфільтровують, ретельно промивають водою, сушать.

Вихід – 1,0 г (75 %). Температура плавлення – 252-4 °С, C₁₅H₁₂N₃O₂.

М.м. 266 (мас-спектр).

Спектр ПМР: 8,41 (1H, т, CONH); 7,08-7,32 (9H, м, Ar-H); 4,71 (4H, д, CH₂Ph).

Бензиламід 2-оксо-7-метил-імідазо[1,2-а] піридин-3-карбонової кислоти (4б)

Отримують аналогічно 4а.

Вихід – 80 %. Температура плавлення – 257-258 °С, C₁₆H₁₄N₃O₂.

М.м. 280 (мас-спектр).

Спектр ПМР: 8,40 (1H, т, NHCO); 7,32-7,11 (8H, м, Ar-H); 4,50 (2H, т, NHCH₂); 2,09 (3H, с, CH₃).

Бензиламід 2-оксо-5-феніл-імідазо[1,2-в]тіазол-3-карбонової кислоти (7)

До розчину 1,8 г (0,005 моль) добензиламіду броммалонової кислоти (1) в 40 мл етанолу додають 0,82 г (0,005 моль) 4-феніл-2-амінотіазолу (5), нагрівають до розчинення та залишають на 1 год. Охолоджену реакційну масу виливають у 100 мл води, осад відфільтровують, промивають, сушать.

Вихід – 1,2 г (69%). Температура плавлення 230-232 °С (розкладається), C₁₉H₁₄N₃O₂S.

М.м. 348 (мас-спектр).

Спектр ПМР: 7,72 (1H, т, CONH); 7,26-7,11 (11H, м, Ar-H); 4,34 (2H, д, NHCH₂).

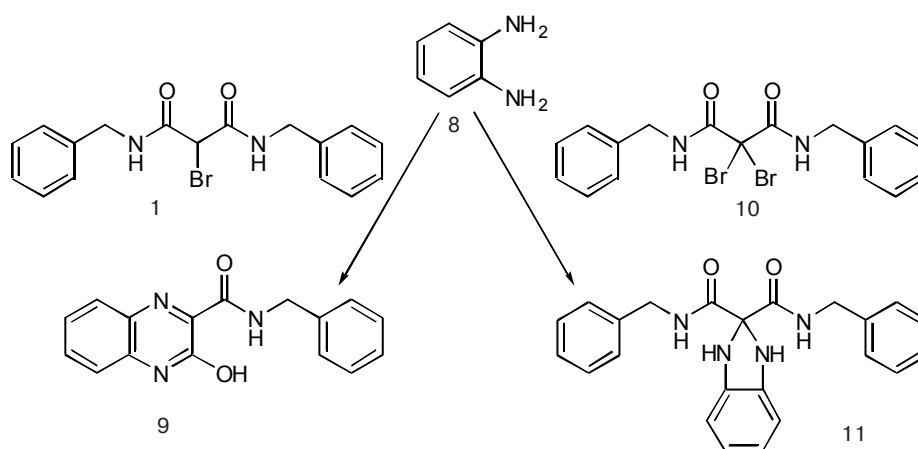


Схема 3. Синтез бензиламіду 2-гідроксихіноксалін-3-карбонової кислоти (9) та N,N'-добензиламіду бензімідазолін-2,2-дикарбонової кислоти (11).

Бензиламід 2-гідроксихіноксалін-3-карбонової кислоти (9)

До розчину 1,8 г (0,005 моль) дибензиламід-у броммалонової кислоти (1) в 40 мл етанолу додають 0,54 г (0,005 моль) о-фенілендіаміну (8), нагрівають та залишають на 1 год. Охолоджену реакційну масу виливають у 100 мл води, осад відфільтровують, промивають, сушать.

Вихід – 1,3 г (92%). Температура плавлення 152-4 °С, $C_{16}H_{13}N_3O_2$.

М.м. 279 (мас-спектр).

Спектр ПМР: 9,09 (1H, с, OH); 8,67 (1H, т, NHCO); 6,44-7,60 (9H, м, ArH); 4,28 (2H, д, $NHCH_2$).

N,N'-дибензиламід бензимидазолін-2,2-дикарбонової кислоти (11)

2,2 г (0,005 моль) дибензиламід-у диброммалонової кислоти (10) розчиняють у 20 мл етанолу, додають 0,54 г (0,005 моль) о-фенілендіаміну (8) і нагрівають зі зворотним холодильником протягом 12 год, охолоджену реакційну масу виливають у 100 мл води, осад, що випав, відфільтровують, промивають водою, сушать.

Вихід – 1,8 г (92%). Температура плавлення – 210-212 °С, $C_{17}H_{22}N_3O_2$.

М.м. 399 (мас-спектр).

ВИСНОВКИ. 1. Взаємодія N,N'-дибензиламід-у броммалонової кислоти з похідними 2-амінопіридину відбувається через стадію утворення ілідів піридинію і призводить до виникнення відповідних бензиламідів 2-оксо-7-метилімідазо[1,2-а]піридин-3-карбонових кислот. Аналогічними є механізм реакції та кінцевий продукт взаємодії N,N'-дибензиламід-у броммалонової кислоти з 4-феніл-2-амінотіазолом.

2. о-Фенілендіамін реагує з N,N'-дибензиламідом броммалонової кислоти з утворенням бензиламід-у 2-гідроксихіноксалін-3-карбонової кислоти. Використання як алкілувального агента дибромпохідної призводить до отримання N,N'-дибензиламід-у бензимидазолін-2,2-дикарбонової кислоти.

3. Фармакологічний скринінг синтезованих речовин показав, що бензиламід 2-гідроксихіноксалін-3-карбонової кислоти має помірну нейрорептичну активність, а також значну діуретичну, анагетичну та протизапальну, що є на рівні з препаратами порівняння.

ЛІТЕРАТУРА

- Бабаев Е.В., Ефимов А.В., Майборода Д.А. Гетарены с мостиковым атомом азота. Фенацилирование 2-замещенных 6-метилпиридинов // Химия гетероцикл. соединений. – 1995. – № 8. – С. 1104-1111.
- Безуглый П.А., Георгиянц В.А., Рахимова М.В., Косточка В.А. Дибензиламиды бензилиденмалоновых кислот как потенциальные средства для лечения судорог // Фармаком. – 1998. – № 4. – С. 45-46.
- Георгиянц В.А., Безуглый П.А. Бромирование N,N'-замещенных диамидов малоновой кислоты // Журн. орган. химии. – 2002. – **38**, № 8. – С. 1129-1132.
- Георгиянц В.А., Безуглый П.О., Сич І.А., Рахимова М.В. Синтез амідів N-заміщених аміномалонових кислот як можливих нейротропних засобів // Вісник фармації. – 1997. – № 2 (16). – С. 40-43.
- Георгиянц В.А., Малоштан Л.М., Косточка В.О. та ін. Синтез та місцевоанестезуюча активність похідних дибензиламідів малонової кислоти // Вісник фармації. – 2000. – № 4 (24). – С. 7-10.
- Георгиянц В.А., Савченко В.М. Синтез похідних ацилоксималонових кислот як можливих проліків нових антиконвульсантів // Вісн. фармації. – 2001. – № 1 (25). – С. 13-15.
- Георгиянц В.А. Синтез нових дибензиламідів алкілмалонових кислот та їх протисудомна активність // Фізіологічно активні речовини. – 1999. – № 1 (27). – С. 29-32.
- Делорум А. Современные методы ПМР для химических исследований. – М.: Мир, 1992. – 323 с.
- Георгиянц В.А., Сич І.А., Безуглый П.О. та ін. Експериментальне вивчення впливу дибензиламідів R-аміномалонових кислот на центральну нервову систему // Ліки. – 1998. – № 1. – С. 62-63.
- Литвинов В.П. Илidy пиридиния в органическом синтезе // Журн. орган. химии. – 1994. – **30**, № 10. – С. 1572-1598.
- Bonina P.P., Arenare L., Palagiano F. et al. Synthesis, stability, and pharmacological evaluation of nipecotnic acid pro-drugs // J. Pharm. Sci. – 1999. – **88**, № 5. – P. 561-567.
- Bryans J.S., Wustrow D.J. 3-substituted GABA analogs with central nervous system activity: a review // Med. Res. Rev. – 1999. – **19**, № 3. – P. 149-177.
- Herbert O. Modern synthetic reactions. – Georgia institute of technology, 1972. – 856 p.
- Lane E.S. A modified benzimidazole synthesis. Part II. A route to unsymmetrically substituted 2,2'-dibenzimidazoles and methylenebis-2-benzimidazoles // J. Chem. Soc. – 1995. – № 4. – P. 1079-1081.
- Malawska B., Antkiewicz-Michaluk L. Synthesis, physicochemical properties, anticonvulsant activities and voltage-sensitive calcium channels affinity of N-substituted amides of α -(4-phenylpiperazino)-GABA. Part 3: Search for new anticonvulsant compounds // Pharmazie. – 1999. – **54**, № 4. – P. 239-243.
- Pillai M.P., Jhat S.V. Synthesis and reactions

of 1-acetyl-1H-pyrazolo [3,4-b] quinoxalines substituted at position – 3 // Indian J. Chem. B. – 1993. – **32**, № 10. – P. 1024-1028.

17. Pugsley T.A., Whetzel S.Z., Dooley D.J. Reduction of 3,4-diaminopyridine-induced biogenic amine synthesis and release in rat brain by gabapentin //

Psychopharmacology Berl. – 1998. – **137**, № 1. – P. 74-80.

18. Sussan S., Dagan A., Bialer M. Pharmacokinetic analysis and anticonvulsant activity of glycine and glycinamide derivatives // Epilepsy Res. – 1999. – **33**, № 1. – P. 11-21.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ N,N'-ДИБЕНЗИЛАМИДА БРОММАЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ С БИФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ АМИНАМИ – ПУТЬ К НОВЫМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМ ВЕЩЕСТВАМ

В.А. Георгиянц, И.А. Сыч

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Проведено реакцию N,N'-добензиламида броммалоновой кислоты с бифункциональными аминами – производными 2-аминопиридина, 2-аминотиазола и о-фенилендиамин. Взаимодействие с производными 2-аминопиридина проходит через стадию образования илидов пиридиния и приводит к возникновению соответствующих бензиламидов 2-оксо-7-метилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбоновых кислот. Аналогичны механизм реакции и конечный продукт взаимодействия с 4-фенил-2-аминотиазолом.

о-Фенилендиамин реагирует с N,N'-добензиламидом броммалоновой кислоты с образованием бензиламида 2-гидроксихиноксалин-3-карбоновой кислоты. Использование в качестве алкилирующего агента дибромпроизводного приводит к получению N,N'-добензиламида бензимидазолин-2,2-дикарбоновой кислоты.

Строение полученных веществ доказано с помощью элементного анализа, данных спектроскопии ПМР и масс-спектрометрии. Фармакологический скрининг синтезированных веществ показал, что бензиламид 2-гидроксихиноксалин-3-карбоновой кислоты обладает умеренной нейролептической активностью, а также значительной диуретической, анальгетической и противовоспалительной, на уровне с препаратами сравнения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: N,N'-добензиламид, бифункциональные амины, взаимодействие, элементный анализ, спектроскопия ПМР, масс-спектрометр.

INTERACTION OF BROMOMALONIC ACID N,N'-DIBENZYLAMIDE WITH BIFUNCTIONAL AMINES – A PATHWAY TO THE NEW PHARMACOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

V.A. Georgiyants, I.A. Sych

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY

Summary

Interaction of bromomalonic acid N,N'-dibenzylamide with bifunctional amines such as 2-aminopyridine, 2-aminothiazole derivatives and o-phenylenediamine was carried out. Reaction with 2-aminopyridine derivatives goes with a formation of pyridinium ilides as intermediates and leads to the correspondent benzylamides of 2-oxo-7-methyl-imidazo[1,2-a]pyridine-3-carboxylic acids. The mechanism of reaction and final product of interaction with 4-phenyl-2-aminothiazole are analogous.

o-Phenylenediamine reacts with bromomalonic acid N,N'-dibenzylamide with the formation of benzylamide of 2-hydroxy-quinoxaline-3-carboxylic acid. The usage of dibromoderivative as alkylating agent leads to the obtaining of benzimidazole-2,2-dicarboxylic acid N,N'-dibenzylamide.

The structure of the compounds obtained was improved by elemental analysis, spectroscopy NMR and mass-spectrometry. Pharmacological screening of the substances synthesized shows that benzylamide of 2-hydroxy-quinoxaline-3-carboxylic acid has moderate neuroleptic and high diuretic, analgesic and anti-inflammatory activity, which are the same as the comparative preparations.

KEY WORDS: bromomalonic acid N,N'-dibenzylamide, bifunctional amines, interaction, elemental analysis, spectroscopy NMR, mass-spectrometry.

Отримано 15.04.2003 р.

Адреса для листування: В.А. Георгіянц, Україна.

ЗМІНА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ ПІД ВПЛИВОМ НІФЕДИПІНУ

А.В. Глущенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Подані результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів ліпопротеїнів сироватки крові при ішемічній хворобі серця до і після лікування ніфедипіном. Отримані дані можуть використовуватися в клініці для вироблення терапевтичного підходу з метою підвищення ефективності лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ішемічна хвороба серця, ліпопротеїнди низької густини, ліпопротеїди високої густини, жирні кислоти, перекисне окиснення ліпідів, антагоністи кальцію.

ВСТУП. Порушення ліпідного обміну є важливим фактором у патогенезі ішемічної хвороби серця (ІХС) [1, 2, 9]. Ендогенним процесом, який здатний викликати пошкодження мембранних структур клітин і тканин, є процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Оптимальний субстрат процесу ПОЛ – фосfolіпіди біомембран, точніше ненасичені (полієнові) жирні кислоти, які входять до їх складу, а безпосередня мішень атаки окисних радикалів – подвійні зв'язки в їх молекулах [2, 3, 5, 6].

Для лікування ІХС широко застосовують антагоністи кальцію (АК), зокрема ніфедипін. Ніфедипін належить до підгрупи дигідропіридинів. Терапевтичний ефект ніфедипіну при лікуванні ІХС пояснюється, по-перше, зменшенням потреби міокарда в кисні за рахунок зменшення післянавантаження внаслідок периферичної вазодилатуючої дії, по-друге, прямою коронародилатуючою дією [7].

Мета дослідження – оцінити жирнокислотний склад ліпідів ліпопротеїнів сироватки крові при ІХС методом газорідної хроматографії (ГРХ) до і після застосування ніфедипіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 30 пацієнтів (18 жінок і 12 чоловіків) віком від 45 до 67 років, у яких діагностовано ІХС, стабільну стенокардію I – III функціонального класу (ФК) (класифікація Канадської асоціації кардіологів) з хронічною серцевою недостатністю не більше II А ступеня за класифікацією Стражеско-© А.В. Глущенко, 2003.

Василенко. Як контроль використовували дані 20 практично здорових осіб тієї ж вікової групи. Діагноз встановлювали на підставі анамнестичних даних, клінічного, лабораторного та інструментального методів досліджень. Всім пацієнтам раніше призначали різні антигіпертензивні та антиангінальні препарати.

Препарат ніфедипін (фенігідин, виробництво ВАТ “Вітаміни”, м.Умань) призначали всім пацієнтам по 10 мг тричі на день протягом 4 тижнів. Об'єктом досліджень була сироватка крові, з якої виділяли ліпопротеїни низької густини (ЛПНГ) і ліпопротеїни високої густини (ЛПВГ) [8].

Підготовку біологічного матеріалу та газохроматографічний аналіз ліпопротеїдів сироватки крові проводили за методикою [4].

У спектрі жирних кислот (ЖК) ЛПНГ та ЛПВГ сироватки крові було ідентифіковано 6 найбільш інформативних ЖК: пальмітинову ($C_{16:0}$), стеаринову ($C_{18:0}$), олеїнову ($C_{18:1}$), лінолеву ($C_{18:2}$), ліноленову ($C_{18:3}$), арахідонову ($C_{20:4}$). Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання стандартів ЖК. Кількісну оцінку ЖК ліпідів ліпопротеїдів сироватки крові проводили методом нормування вимірюючи площі піків метильованих похідних ЖК і визначали їх вміст у відсотках.

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислот-

ного складу ЛПНГ та ЛПВГ сироватки крові хворих на ІХС до і після лікування ніфедипіном наведено в таблицях 1 та 2.

При порівнянні ліпідних показників у хворих на ІХС з даними контролю (таблиця 1) можна відмітити достовірні відмінності у співвідношенні насичених і ненасичених ЖК у ЛПНГ сироватки крові. Ці відмінності полягають у достовірно підвищеному вмісті пальмітинової ЖК, що свідчить про можливе накопичення лізоформ лецитинової фракції фосфоліпідів ЛПНГ сироватки крові при ІХС.

Рівень ПНЖК також достовірно знижений у порівнянні з контролем за рахунок зниженого вмісту есенціальних ЖК (лінолевої та арахідонової). Такі зміни вмісту ПНЖК у ЛПНГ сироватки крові при ІХС є результатом активації процесів ПОЛ.

Таким чином, жирнокислотна формула ЛПНГ сироватки крові хворих на ІХС характеризується підвищеною насиченістю ліпідного комплексу на фоні дефіциту ПНЖК.

При зіставленні ліпідних показників хворих на ІХС з даними контролю (таблиця 2) можна відмітити також достовірні відмінності у співвідношенні насичених і ненасичених ЖК у ЛПВГ сироватки крові. Так, достовірно підвищена насиченість ліпідного комплексу ЛПВГ сироватки обумовлена достовірним підвищенням вмісту пальмітинової ЖК за рахунок збільшення лізоформ лецитину.

Знижений рівень ПНЖК обумовлений змінами вмісту есенціальних ЖК, причому достовірно знижений вміст лінолевої ЖК спостерігався на фоні достовірно підвищеного вмісту арахідонової ЖК (майже в 4 рази). Такий стан жирнокислотного складу ЛПВГ сироватки крові при ІХС є результатом активації процесу ПОЛ і призводить до порушення метаболізму есенціальних ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів, що добре узгоджується з літературними даними [2].

Після лікування ніфедипіном в жирнокислотному складі ліпідів ЛПНГ і ЛПВГ сироватки крові спостерігалася нормалізація ліпідних показників в основному за рахунок зміни рівня есенціальних ЖК, як лінолевої, так і арахідонової ЖК. Такий вплив препарату добре погоджується з клінічними проявами (зменшення частоти ангінозних болей, нормалізація артеріального тиску).

ВИСНОВКИ. 1. При ІХС відмічено зміни жирнокислотного спектра сироватки крові (для ЛПНГ та ЛПВГ сироватки крові характерним є підвищена насиченість на фоні дефіциту ПНЖК).

2. Ефективність застосування ніфедипіну (фенігідину виробництва ВАТ "Вітаміни", м. Умань) при ІХС полягає в нормалізації рівня ПНЖК і відновленні метаболізму їх на етапі утворення ейкозаноїдів.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад (%) ЛПНГ сироватки крові здорових осіб і хворих на ІХС до і після лікування (M±m)

Назва ЖК	ЛПНГ		
	Контроль	До лікування	Після лікування
C _{16:0}	29,9 ± 1,8	39,8 ± 1,2*	43,7 ± 1,3
C _{18:0}	12,7 ± 0,8	12,6 ± 0,5	8,8 ± 0,9
C _{18:1}	17,2 ± 0,7	14,8 ± 1,0*	16,0 ± 0,7
C _{18:2}	30,7 ± 1,1	20,7 ± 1,6*	21,7 ± 2,0
C _{18:3}	-	-	0,9 ± 0,3
C _{20:4}	6,1 ± 0,5	11,9 ± 2,5*	8,8 ± 1,4
Сума НЖК	42,6 ± 1,6	52,4 ± 1,2*	52,5 ± 1,0
Сума ННЖК	57,4 ± 1,6	47,6 ± 1,2*	47,5 ± 1,0
Сума ПНЖК	40,3 ± 1,4	32,0 ± 1,9*	26,4 ± 1,7

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – зміни достовірні, порівняно з контролем (p<0,05).

Таблиця 2 – Жирнокислотний склад (%) ЛПВГ сироватки крові здорових осіб і хворих на ІХС до і після лікування (M±m)

Назва ЖК	ЛПВГ		
	Контроль	До лікування	Після лікування
C _{16:0}	28,2 ± 1,3	39,7 ± 1,9*	41,2 ± 1,4
C _{18:0}	11,5 ± 0,8	13,9 ± 1,2	8,8 ± 1,4
C _{18:1}	17,7 ± 0,9	14,4 ± 1,0	16,3 ± 0,7
C _{18:2}	25,4 ± 1,5	17,0 ± 1,2*	24,5 ± 1,0
C _{18:3}	-	-	1,0 ± 0,1
C _{20:4}	3,9 ± 0,3	15,0 ± 1,0*	8,2 ± 1,6
Сума НЖК	39,7 ± 1,4	53,6 ± 1,2*	50,0 ± 1,4
Сума ННЖК	60,3 ± 1,4	46,4 ± 1,2*	50,0 ± 1,4
Сума ПНЖК	42,7 ± 1,3	32,0 ± 2,0*	25,5 ± 1,7*

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н., Афолина Г.Б., Русин Е.В., Павлович А.В. Роль свободных радикалов в патогенезе ишемического повреждения миокарда // Укр. кард. журнал. – 1999. – **2**, № 2. – С. 121-126.
2. Афолина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – Киев, 2000. – 287 с.
3. Барабой В.А., Сутовой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – Киев: Чернобыльинтеринформ, 1997. – Часть 1. – 202 с.
4. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М., Рева С.Н. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кардіол. журнал. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушение. – Питер, 1999. – 505 с.
6. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии // Вопр. мед. химии. – 1985. – **31**, № 5. – С. 2-7.
7. Марцевич С.Ю. Нифедипин. Различные лекарственные формы в лечении сердечно-сосудистых заболеваний // Кардиология. – 1998. – **38**, № 11. – С. 66-74.
8. Методика выделения липопротеидов // В кн.: Хемилюменисцентный анализ в профилактической и клинической медицине. Метод. рекомендации. – Москва, 1989. – 26 с.
9. Ташук В.К., Мещишен І.Ф., Ташук К.Г. Перекисне окиснення ліпідів: особливості реалізації при гострих формах ішемічної хвороби серця // Буковин. мед. вісник. – 2001. – **5**, № 2. – С. 144-147.

ИЗМЕНЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА ПОД ВЛИЯНИЕМ НИФЕДИПИНА

А.В. Глущенко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Приведены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного состава липидов липопротеинов сыворотки крови при ишемической болезни сердца до и после лечения нифедипином. Полученные данные могут быть использованы в клинике для выработки терапевтического подхода с целью повышения эффективности лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемическая болезнь сердца, липопротеины низкой плотности, липопротеины высокой плотности, жирные кислоты, перекисное окисление липидов, антагонисты кальция.

CHANGE OF FATTY-ACID COMPOSITION OF LIPOPROTEINS IN BLOOD SERUM AT ISCHEMIC HEART DISEASE UNDER THE INFLUENCE OF NIFEDIPINE

A.V. Glushchenko

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET'S

Summary

The results of the gas-chromatographic analysis of fatty-acid composition of lipids of lipoproteins in blood serum at ischemic heart disease before and after treatment by nifedipin are presented in this article. The received data may be used in clinic for the proved therapeutic approach with the purpose of increase of treatment efficiency.

KEY WORDS: ischemic heart disease, low density lipoproteins (LDLP), high density lipoproteins (HDLP), fatty acids, lipid peroxidation, calcium antagonists.

Отримано 18.03.2003 р.

Адреса для листування: А.В. Глущенко, вул. Малиновського, 7а, кв.95, Київ, 04212, Україна.

РОЛЬ ЕНДОТЕЛІО У ФОРМУВАННІ СКОРОТЛИВИХ РЕАКЦІЙ СУДИННОЇ СТІНКИ ПІД ДІЄЮ ГІПОКСІЇ

О.О. Павлова, І.В. Кізуб, А.І. Соловійов

ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

Досліджували зміни скоротливої активності ізольованих інтактних, скінованих та деендотелізованих препаратів легеневи артерій та грудної аорти щура під дією гіпоксії. Показано, що реакцією скоротливого апарату судинних гладеньком'язових клітин на гіпоксію є розслаблення. Можна припустити, що напрямок скоротливих реакцій стінки судин легеневого та системного кіл кровообігу модулюється ендотеліозалежними механізмами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, ендотелій, легеневі артерії, скіновані м'язи.

ВСТУП. Відомо, що легенева гіпертензія, яка супроводжується гіпертрофією правого шлуночка та виникненням серцевої недостатності, може бути спричинена кисневою тканинною недостатністю, або станом гіпоксії, що нерідко виникає як наслідок багатьох захворювань дихальної та серцево-судинної систем, а також за умов високогір'я, висотних польотів, фізичного навантаження тощо. В основі гіпоксичної легеневої гіпертензії лежить цілком фізіологічна властивість стінки легеневи артерій відповідати на дію гіпоксії констрикцією з метою підтримання оптимального перфузійно-вентиляційного співвідношення у легенях [2, 13, 19]. Разом із тим, реакцією на гіпоксію стінки судин системного кола кровообігу є розслаблення [6, 8, 16], однак механізми, що відповідають за різноспрямованість гіпоксичних судинних реакцій, як і механізми формування гіпоксичної легеневої вазоконстрикції, досі остаточно не з'ясовано. Вирішення цих питань дозволить розробити адекватні методи фармакологічної корекції гіпоксичної легеневої гіпертензії.

Сучасні дослідження свідчать про те, що сенсорами O_2 у судинних гладеньком'язових клітинах (ГМК) є катіонні канали поверхневої мембрани [3, 17, 22] активність яких може регулюватись змінами окисно-відновного стану клітини під дією гіпоксії [5, 7, 15, 21, 23] та призводити до змін внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} [9, 18, 24]. При цьому

джерелом змін клітинного окисно-відновного стану можуть бути оксидази мітохондріального електронно-транспортного ланцюга [10, 12, 25, 26]. Крім того, гіпоксія здатна безпосередньо впливати на скоротливий апарат ГМК, викликаючи зміни його чутливості до Ca^{2+} за участю таких регуляторних ферментів, як протеїнкіназа С та Rho-кіназа [4, 14]. Разом із тим, відомо, що у розвиток гіпоксичних реакцій судинної стінки також значний внесок робить ендотелій, здійснюючи моделюючий гуморальний вплив на судинні ГМК [1, 11, 13, 20].

Метою даного дослідження було з'ясувати відносну участь механізмів, пов'язаних з ендотелієм, у формуванні реакцій стінки магістральних артерій легеневого та системного кіл кровообігу на гіпоксію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на кільцевих сегментах легеневи артерій та грудної аорти щурів обох статей масою 200-250 г. Тварин було анестезовано фенобарбіталом (50 мг/кг ж. м.) та вбито шляхом цервікальної дислокації з наступним знекровленням. Реєстрацію скоротливої активності препаратів здійснювали в ізометричному режимі. Перфузію інтактних судинних сегментів проводили термостатованим (36-37 °С) розчином Кребса такого складу (ммоль): NaCl 133; KCl 4,7; $NaHCO_3$ 16,3; NaH_2PO_4 1,38; $CaCl_2$ 2,5; $MgCl_2$ 1,2; глюкоза 7,77; pH = 7,3-7,4. Досліджували скоротливі реакції інтактних судинних препаратів на фоні їхнього попереднього

скорочення норадреналіном (НА) у концентрації $3 \cdot 10^{-7}$ М. Перевірку наявності чи відсутності ендотелію здійснювали за допомогою ацетилхоліну (АХ) у концентрації 10^{-5} М.

Хімічне скінування ізольованих судинних препаратів проводили із застосуванням холістерол-преципітувального детергента сапоніну в концентрації 0,1-0,5 мг/мл протягом 15-20 хв для препаратів легеневи артерій та грудної аорти відповідно. Перфузію скінованих судинних препаратів здійснювали при кімнатній температурі (21-22 °С) аерованим релаксувальним розчином такого складу (ммоль): KCl 130; MgCl₂ 5; Tris-HCl 20; EGTA 4; Na₂ATP 3,3; 1,4-дитіотриетол 0,5; рН=6,8. Дослідження скоротливих реакцій скінованих судинних препаратів проводили на фоні попереднього скорочення судинних препаратів активуючим розчином, який містить такі ж компоненти, що і релаксувальний розчин, за винятком заміщення EGTA на Ca-EGTA (рСа=5,3).

Нормоксичний стан створювали шляхом барбатування буферного розчину сумішшю газів: 21 % O₂, 5 % CO₂, 74 % N₂. P_{o2} буферного розчину при цьому складав 135-145 мм рт. ст. Гіпоксичний стан створювали шляхом барбатування буферного розчину сумішшю таких газів, як 5 % CO₂ та 95 % N₂, знижуючи P_{o2} буферного розчину до 30-35 мм рт. ст. Парціальний тиск кисню та рН визначали за допомогою вимірювача розчиненого кисню Inolab Multi Level 1, WTW (Німеччина) та рН-метра MP 220, Mettler Toledo (США).

У роботі було використано такі фармакологічні агенти: ацетилхолін, артеринол (норадреналін), сапонін (усі Sigma Co., США).

Амплітуда скоротливих реакцій представлена як середнє значення \pm похибка середнього значення для кількості експериментів (n). Достовірність розходжень між значеннями визначали за t-критерієм Стюдента. Розходження вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Гіпоксія (P_{o2}=30-35 мм рт. ст.) викликала двофазну реакцію стінки ізольованих судинних препаратів легеневої артерії щурів, яка складалася із швидкого транзитного скорочення, що становило (45,5 \pm 5,3) % від рівня вихідного тону, створеного дією НА в концентрації $3 \cdot 10^{-7}$ М, та наступного повільного розслаблення з максимумом (43,0 \pm 9,0) % (n=11). Скіновані препарати легеневи артерій реагували на дію гіпоксії розслабленням, величина якого складала (53,4 \pm 2,9) % (n=8; $p < 0,05$) від рівня вихідного тону, створеного активуючим

розчином (рСа=5,3). Деендотелізація судинних сегментів легеневої артерії призводила до перетворення гіпоксичної реакції на розслаблення, яке становило (33,9 \pm 5,1) % (n=9, $p < 0,05$). Скоротливі реакції ізольованих інтактних, скінованих та деендотелізованих препаратів легеневи артерій під впливом гіпоксії представлено на рисунку 1, А.

Інтактні препарати грудної аорти відповідали на дію гіпоксії розслабленням ((78,0 \pm 8,4) %; n=9). У скінованих препаратах грудної аорти зменшення рівня оксигенації розчину також викликало зниження тону ГМК ((40,9 \pm 4,8) %; n=8; $p < 0,01$). Деендотелізовані препарати грудної аорти також реагували на гіпоксію дилатацією, величина якої відносно гіпоксичної реакції інтактних препаратів достовірно не змінювалась ((82,8 \pm 4,2) %; n=9, $p > 0,05$). Скоротливі реакції ізольованих інтактних, скінованих та деендотелізованих препаратів грудної аорти під впливом гіпоксії представлено на рисунку 1, Б.

Дилатація скінованих препаратів легеневи артерій та грудної аорти під дію гіпоксії свідчить про те, що реакцією скоротливого апарату ГМК, загальною для судин як легеневого, так і системного кіл кровообігу, є розслаблення. Той факт, що скорочення легеневи артерій під впливом гіпоксії зникає після деендотелізації судинних сегментів, може свідчити про те, що гіпоксична легенева вазоконстрикція має ендотелій-залежний характер, що ендотелій є ланкою, яка зумовлює відмінність реакцій легеневи та системних артерій на гіпоксію. Такий регуляторний вплив ендотелію на розвиток гіпоксичних реакцій стінки легеневи судин може бути наслідком зсуву рівноваги у взаємодії між простагландином I₂, NO та ЕЗГФ – з одного боку та деполаризувальними вазоконстрикторами простагландинами E₂ та F_{2α}, лейкотрієнами C₄ та D₄, ендотелінами та тромбоксаном B₂ з іншого [20]. Таким чином, результати наших досліджень свідчать про те, що ендотелій здатний регуляторно впливати на розвиток гіпоксичних реакцій судинних ГМК та визначати напрямок реакцій легеневого та системного кіл кровообігу під дію гіпоксії.

ВИСНОВКИ. 1. Реакцією скоротливого апарату судинних ГМК на зниження ступеня їх оксигенації є розслаблення.

2. Ендотелій чинить модулюючий вплив на розвиток гіпоксичних реакцій ГМК кровеносних судин і може бути ланкою, яка зумовлює різноспрямованість реакції стінки судин легеневого та системного кіл кровообігу на гіпоксію.

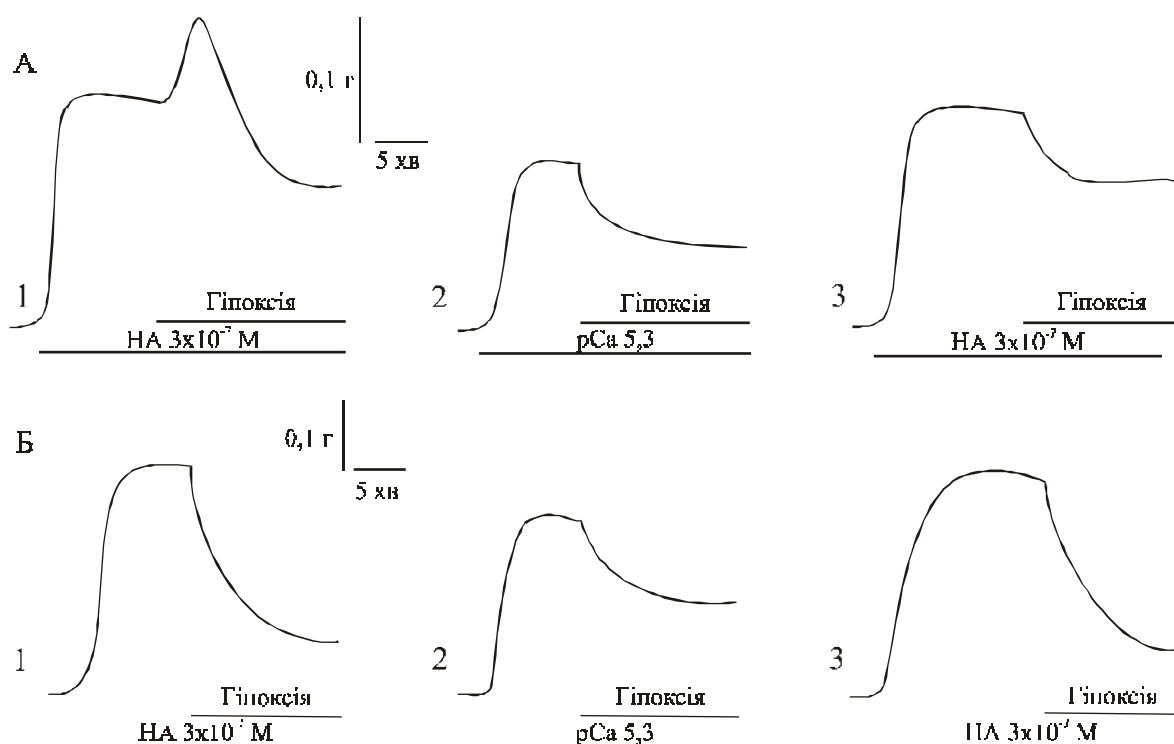


Рис. 1. Скоротливі реакції ізольованих інтактних (1), скінованих (2) та деендотелізованих (3) препаратів легневих артерій (А) та грудної аорти (Б) щура під дією гіпоксії (P_{O_2} – 30-35 мм рт.ст.) на фоні попереднього скорочення норадреналіном (НА – $3 \cdot 10^{-7}$ М) або іонами Ca^{2+} (рСа – 5,3). Горизонтальними лініями позначено час експозиції гіпоксії та попередньої активації препаратів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Базилюк О.В., Берштейн С.А., Соловьев А.И. Роль эндотелия в развитии сократительных реакций сосудистых гладких мышц при снижении их оксигенации // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1986. – **101**, № 6. – С. 134-141.
2. Соловьев А.И., Карасаева А.Х. Механизмы регуляции сократимости гладкомышечных клеток сосудов легких при гипоксии. – Фрунзе: Илим, 1986. – 36 с.
3. Соловьев А.И., Стефанов А.В. Механизмы изменения кальциевой проводимости сарколеммы гладкомышечных клеток сосудов при гипоксии // Физиол. журн. СССР. – 1985. – **71**, № 12. – С. 1560-1567.
4. Bonnet S., Belus A., Hyvelin J.M. et al. Effect of chronic hypoxia on agonist-induced tone and calcium signalling in rat pulmonary artery // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2001. – **281**, № 1. – P. L193-L201.
5. Coppock E.A., Martens J.R., Tamkun M.M. Molecular basis of hypoxia-induced pulmonary vasoconstriction: role of voltage-gated K^+ channels // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2001. – **281**, № 1. – P. L1-L12.
6. Daut I., Maier-Rudolf W., Von Beckerath N. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels // Science – 1993. – **247**. – P. 1341-1344.
7. Duprat F., Guillemare E., Romey G. et al. Susceptibility of cloned K^+ channels to reactive oxygen species // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1995. – **92**. – P. 11796-11800.
8. Franco-Obregon A., Urena J., Lopez-Barneo J. Oxygen-sensitive calcium channels in vascular smooth muscle and their possible role in hypoxic arterial relaxation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1995. – **92**, № 10. – P. 4715-4719.
9. Gelband C.H., Gelband H. Ca^{2+} release from intracellular stores is an initial step in hypoxic pulmonary vasoconstriction of rat pulmonary artery resistance vessels // Circulation. – 1997. – **96**. – P. 3647-3654.
10. Jones R.D., Hancock J.T., Morice A.H. NADPH oxidase: a universal oxygen sensor? // Free Radical Biol. End Med. – 2000. – **29**. – P. 416-424.
11. Kovitz K.L., Aleskowitch T.D., Sylvester J.T., Flavahan N.A. Endothelium-derived contracting and relaxing factors contribute to hypoxic responses of pulmonary arteries // Am. J. Physiol. – 1993. – **265**. – P. H1139-H1148.
12. Leach R.M., Hill M., Snetkov V.A. et al. Divergent roles of glycolysis and the mitochondrial electron transport chain in hypoxic pulmonary vasoconstriction of the rat: identity of the hypoxic sensor // J. Physiol. – 2001. – **536**, № 1. – P. 211-224.
13. Marriott J.F., Marshall J.M. Effects of hypoxia upon contractions evoked in isolated rabbit pulmonary artery by potassium and noradrenaline // J. Physiol. – 1990. – **422**. – P. 15-22.

14. Negesetty R., Paul R.J. Effects of pH on isometric force and $[Ca^{2+}]_i$ in porcine coronary artery smooth muscle // *Circ. Res.* – 1994. – **75**, № 6. – P. 990-998.
15. Park M.N., Lee S.H., Ho W.K., Earm Y.E. Redox agents as a link between hypoxia and the responses of ionic channels in rabbit pulmonary vascular smooth muscle // *Experim. Physiol.* – 1995. – **80**, № 5. – P. 835-842.
16. Pearce W.J. Mechanisms of hypoxic cerebral vasodilatation // *Pharmacol. Ther.* – 1995. – **65**, № 1. – P. 75-91.
17. Post J.M., Hume J.R., Archer S.L., Weir E.K. Direct role for potassium channel inhibition in hypoxic pulmonary vasoconstriction // *Am. J. Physiol.* – 1992. – **262**. – P. C882-C890.
18. Robertson T.P., Hague D.E., Aaronson P.I., Ward J.P.T. Voltage-independent calcium entry in hypoxic pulmonary vasoconstriction of intrapulmonary arteries of the rat // *J. Physiol.* – 2000. – **252**. – P. 669-680.
19. Rodman D.V., Yamaguchi T., O'Brien R., McMurtry I. Hypoxic contraction of isolated rat pulmonary artery // *J. Pharmacol. And Exp. Ther.* – 1989. – **248**, № 3. – P. 952-959.
20. Ruckborn K., Siegel G. Hypoxic vasoconstriction and vasodilatation in human pulmonary arteries // *J. Vasc. Res.* – 1994. – **31**, №1. – P. 43.
21. Ruppertsberg J.P., Stocker M., Pong O. et al. Regulation of fast inactivation of cloned mammalian IK(A) channels by cysteine oxidation // *Nature.* – 1991. – **352**. – P. 711-714.
22. Soloviev A.I., Stefanov A.V., Baziliy O.V. et al. Changes in plasma membrane ionic permeability and related contractile responses in vascular smooth muscle at hypoxia // *Pathophysiol.* – 1996. – **3**. – P. 11-20.
23. Stenmark K.R., Frid M., Nemenoff R. et al. Hypoxia induced cell-specific changes in gene expression in vascular wall cells: implications for pulmonary hypertension // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1999. – **474**. – P. 231-258.
24. Valuda M.S., Kleinman J.G., Madden J.A. Effect of hypoxia and norepinephrine on cytoplasmic free Ca^{2+} in pulmonary and cerebral arterial myocytes // *Am. J. Physiol.* – 1993. – **265**, № 6. – P. L591-597.
25. Waypa G.B., Chandel N.S., Schumacker P.T. Model for hypoxic pulmonary vasoconstriction involving mitochondrial oxygen sensing // *Circ. Res.* – 2001. – **88**, № 12. – P. 1259-1266.
26. Weissmann N., Tadic A., Hanze J. et al. Hypoxic vasoconstriction in intact lungs: a role for NADPH oxidase-derived H_2O_2 ? // *Am. J. Physiol.* – 2000. – **279**. – P. L683-L690.

РОЛЬ ЭНДОТЕЛИЯ В ФОРМИРОВАНИИ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИПОКСИИ

А.А. Павлова, И.В. Кизуб, А.И. Соловьев

ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ

Резюме

Исследовали изменения сократительной активности изолированных интактных, скиннированных и дээндотелизированных препаратов легочных артерий и грудной аорты крысы под действием гипоксии. Показано, что реакцией сократительного аппарата сосудистых гладкомышечных клеток на гипоксию является расслабление. Можно предположить, что направление сократительных реакций стенки сосудов легочного и системного кругов кровообращения модулируется эндотелийзависимыми механизмами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксия, эндотелий, легочные артерии, скиннированные мышцы.

THE ROLE OF ENDOTHELIUM IN VESSELS WALL CONTRACTING RESPONSES UNDER HYPOXIC CONDITION

O.O. Pavlova, I.V. Kizub, A.I. Soloviev

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

Summary

The pulmonary artery and thoracic aorta contractile activity changes were investigated under hypoxic condition on intact, skinned and denuded isolated preparations. The data suggest that hypoxic responses of vascular smooth muscles is relaxation while endothelium-dependent mechanisms operates as the main determinant of different response of pulmonary and systemic arteries to hypoxia.

KEY WORDS: hypoxia, endothelium, pulmonary arthery, skinned muscles.

Отримано 14.05.2003 р.

Адреса для листування: А.І. Соловйов, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03057, Україна.

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ ЛІПІДІВ МИГДАЛИКІВ ПРИ ЇХ ПАТОЛОГІЇ

Ю.В. Мітін, Ю.В. Шевчук, Т.С. Брюзгіна

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

У роботі наведено дані про жирнокислотний склад ліпідів піднебінних мигдаликів при хронічному тонзиліті та гіпертрофії, досліджених методом газохроматографічного аналізу. Встановлено, що для тонзилітів характерні різке підвищення концентрації арахідонової та зниження ліноленової жирних кислот (ЖК), а для гіпертрофії – значне зростання рівня пальмітолеїнової і арахідонової та зниження ліноленової ЖК, що є результатом активації процесів ліпідної пероксидації, одним із механізмів розвитку патології мигдаликів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, жирні кислоти, мигдалики, хронічний тонзиліт, гіпертрофія.

ВСТУП. Оптимальним субстратом процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є ненасичені ЖК, а безпосередньою мішенню атаки окиснювальних радикалів – подвійні зв'язки в молекулах цих кислот. Полієнові ЖК (ліолева, ліноленова, арахідонова) не синтезуються в організмі, але є незамінними вітаміноподібними факторами, які потрапляють з їжею. Від їх нормального вмісту залежать плинність та рухливість мембран, виконання ними найважливіших фізіологічних функцій (диференційна проникність, активний транспорт іонів та метаболітів, захисна та опорна функції, участь у передачі збудження, скоротливості тощо). Пошкодження структурних компонентів мембран у процесі ПОЛ негативним чином відбивається на їхніх функціях, обов'язково змінюючи їх [1, 4].

Зрештою, інтенсифікація процесу ПОЛ істотно впливає на структуру і функції самого ліпідного бішару мембран. Поява підвищеної кількості активних продуктів ПОЛ є сигналом для активації фосфоліпаз, перш за все фосфоліпази A_2 . Вона вищеплює задіяні в окиснювальному процесі ЖК і їх фрагменти, відщеплює ділянки, що утримують пероксидні, епоксидні групи атомів, переводять їх у гідрофільну форму і вимивають, видаляючи з ліпідного бішару. Розрив ланцюга в молекулі полієнової ЖК проходить у місці локалізації подвійного зв'язку. Активація процесу ПОЛ у мембранах

© Ю.В. Мітін, Ю.В. Шевчук, Т.С. Брюзгіна, 2003.

особливо інтенсивна і тривала та супроводжується появою в їх структурі лізоформ фосфоліпідів (лізососфатидилхоліну тощо), альдегідів, кетонів, які пошкоджують структуру ліпідного бішару і потенціюють збільшення проникності й плинності мембран. У відповідь відбувається адаптивна перебудова структури ліпідного бішару мембран [1].

Запальні процеси в організмі, що викликаються різними факторами, мають у своїй основі процеси деструкції мембран і клітин, які визначають характер та результат захворювання. Механізми пошкодження мембран в організмі багатофакторні, проте найбільш суттєва роль належить процесу вільнорадикального окиснення ліпідів [2].

Перспективним напрямком у вивченні патогенезу хронічного тонзиліту та інших хворобливих станів піднебінних мигдаликів є визначення порушень обміну речовин у тканинах, залучених у патологічний процес [5].

Метою наших досліджень було вивчення особливостей метаболічних порушень у ліпідному комплексі мигдаликів при деяких патологічних станах методом газорідинної хроматографії (ГРХ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Нами обстежено 56 хворих (віком 4-40 років) з різними клінічними формами хронічного тонзиліту та гіпертрофії мигдаликів і 6 осіб, що становили контрольну групу (практично здорові). Діагноз встановлювали згідно з анамнестичними

даними, результатами клінічного, лабораторного та інструментального обстежень. Підготовку біологічного матеріалу, отриманого в умовах клініки, для виділення ліпідів та їх газохроматографічний аналіз проводили загальноприйнятним методом [3]. У спектрі ЖК ліпідного шару мембран ідентифіковано 8 найбільш інформативних ЖК:

насичені – С14:0 міристинова, С16:0 пальмітинова, С18:0 стеаринова;

мононенасичені – С16:1 пальмітолеїнова, С18:1 олеїнова;

поліненасичені (ПНЖК) – С18:2 лінолева, С18:3 ліноленова, С20:4 арахідонова.

Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів проводили методом формування площин шляхом вимірювання площі піків метилових похідних ЖК та визначення їх складу у відсотках. Піки ЖК ідентифікували порівнюючи їх із часом утримання піків стандартних ЖК. Визначали суму насичених, ненасичених та поліненасичених ЖК.

Отримані результати опрацьовано методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу ліпідів піднебінних мигдаликів у хворих із хронічним тонзилітом (1-ша група), гіпертрофією мигдаликів (2-га група) і в осіб контрольної групи наведено в таблиці 1.

З таблиці видно, що рівень ненасиченості ліпідного комплексу мигдаликів у хворих 1-ї та 2-ї груп достовірно відрізняється від показників контролю, причому для 2-ї групи характерне значне зростання концентрації пальмітолеїнової мононенасиченої ЖК (С16:1). За вмістом олеїнової ЖК різниці між 1-ю та 2-ю групами не виявлено, немає достовірних відмінностей цього показника і від контролю. З таблиці також

видно, що за вмістом есенціальних ЖК, які зумовлюють рівень ПНЖК, існує вірогідна різниця. Так, у хворих 1-ї та 2-ї груп вміст лінолевої ЖК знижений майже у 2 рази, а лінолевої – майже в 10 разів. Однак підвищений рівень ПНЖК компенсується достовірним зростанням вмісту арахідонової ЖК. Причому у хворих 1-ї групи цей показник збільшений майже в 10 разів, а 2-ї (гіпертрофія) – в 7 разів. Такі зміни вмісту есенціальних кислот у ліпідах мигдаликів при патології зумовлені активацією процесу ліпідної пероксидації і добре узгоджуються з літературними даними [4].

Таким чином, одержані дані дозволяють зробити висновок про те, що розвиток патологічного процесу у мигдаликах спричинений в основному процесом ліпідної пероксидації.

Для оцінки та прогнозу ступеня важкості патологічного процесу ми встановлювали коефіцієнт, який визначає відношення суми ненасичених ЖК до суми ПНЖК:

$$K = \frac{\sum \text{ненасич. ЖК}}{\sum \text{ПНЖК}}$$

При зіставленні обчислених коефіцієнтів можна відмітити, що гіпертрофія мигдаликів (2-га група) характеризується підвищенням, порівняно з контролем, коефіцієнтом k і свідчить про напруження ліпідного метаболізму біологічних мембран. При хронічному тонзиліті (1-ша група) коефіцієнт нижчий, ніж у контрольній групі, та вказує на те, що запальна реакція перебуває в декомпенсованій фазі.

ВИСНОВОК. Процес ліпідної пероксидації може бути однією з причин розвитку патологічного процесу в піднебінних мигдаликах, а нерівномірні зміни спектра ЖК у них можна використати в диференційній діагностиці функціональних порушень лімфаденоїдного кільця горла.

Таблиця 1 – Зміни вмісту ненасичених ЖК у ліпідах мигдаликів, %.

Назва ЖК	1-ша група	2-га група	Контроль
Σ насич. ЖК	62,0±0,8 *	71,1±1,4 *	46,8±1,6
С16:1	–	26,1±2,7	–
С18:1	16,5±0,4	14,8±0,9	19,2±1,1
С18:2	12,8±0,6 *	10,6±0,8 *	21,4±1,9
С18:3	0,20±0,03 *	0,20±0,05 *	3,2±0,3
С20:4	32,5±0,7*	20,1± 1,4 *	3,0±0, 5
Σ ПНЖК	45,5±0,9	30,9±2,0	27,6±1,3
$K = \frac{\sum \text{ненасич. ЖК}}{\sum \text{ПНЖК}}$	1,3	2,3	1,7

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

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина А.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 287 с.
2. Барабой В.А., Сутовой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – С. 27-29.
3. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кард. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
4. Завгородняя Е.Г., Ловпаче З.Н. Эффективность метода прижизненной оценки функционального состояния небных миндалин человека // Вестн. оториноларингол. – 1990. – № 3. – С. 27-31.
5. Тогузов Р.Т., Тихонов Ю.В., Пименов А.М. Особенности метаболических нарушений лимфоидной ткани небных миндалин у больных хроническим тонзилитом // Вестн. оториноларингол. – 1987. – № 4. – С. 37-41.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЛИПИДОВ МИНДАЛИН ПРИ ИХ ПАТОЛОГИИ

Ю.В. Митин, Ю.В. Шевчук, Т.С. Брюзгина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

Резюме

В работе приведены данные о жирнокислотном составе липидов небных миндалин при хроническом тонзиллите и гипертрофии, исследованных методом газохроматографического анализа. Установлено, что тонзиллиты характеризуются резким повышением концентрации арахидоновой и снижением линоленовой жирных кислот (ЖК), а гипертрофия – значительным возрастанием уровня пальмитолеиновой и арахидоновой и снижением линоленовой ЖК, что является результатом активации процессов липидной перекиссации, одним из механизмов развития патологии миндалин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, жирные кислоты, миндалины, хронический тонзиллит, гипертрофия.

FEATURES OF METABOLIC INJURIES OF TONSILS LIPIDS IN PATHOLOGICAL STATES

Yu.V. Mitin, Yu.V. Shevchuk, T.S. Bruizgina
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET, KYIV

Summary

A fatty-acid composition of palatine tonsil lipids at chronic tonsillitis and hypertrophy has been studied by gas chromatography (GLC). It has been found an increase of unsaturation of palatine tonsil lipid complex due to increase of arachidonic fatty acid level. It is a result of lipid peroxidation process activation and leads to an evolution of pathological process.

KEY WORDS: lipids, fatty acids, tonsils chronic tonsillitis, hypertrophy.

Отримано 02.04.2003 р.

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

АНАТОМО-ГІСТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ПІДЗЕМНИХ ОРГАНІВ ВІЛЬХИ КЛЕЙКОЇ ТА СІРОЇ

О.П. Хворост, П.В. Гречин, А.Г. Сербін
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Проведене анатомо-гістохімічне вивчення підземних органів вільхи клейкої та сірої дозволило встановити діагностичні ознаки анатомічної будови та особливості локалізації фенольних сполук. Анатомічна будова коренів в. сірої відрізняється від коренів в. клейкої відсутністю ліycopодібних потовщень серцевинних променів у вторинній флоемі. Загальними ознаками анатомічної будови коренів обох видів вільхи є 10-15-шарова епідерма, однорідна щільно зімкнута крупноклітинна паренхіма первинної кори, вузькі однорядні серцевинні промені ксилеми, пористі судини з облямованими порами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вільха клейка, вільха сіра, корені, бульбочки, анатомія, гістохімія.

ВСТУП. Вільхи клейка та сіра – поширені рослини вітчизняної флори, що досить популярні в народній медицині. Офіційною сировиною є супліддя, з яких розроблений та випускається промисловістю препарат альтан [7]. Інші частини рослини – сережки, листки, кору та корені використовують у народній медицині [2]. Так, відвари коренів вільхи вживають для полегшення стану при колітах, для примочок при пораненнях, як в'яжучий засіб [3]. Обидва види вільхи належать до рослин, що мають симбіотичну бактеріоризу у вигляді кореневих бульбочок.

Метою дослідження було проведення анатомо-гістохімічного вивчення коренів та бульбочок вільхи клейкої та сірої зі встановленням діагностичних ознак анатомічної будови та особливостей локалізації фенольних сполук.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом вивчення були корені 1-10 років життя, зібрані в Харківській області та на території ботанічного саду Національного державного університету ім. В.Н. Каразіна. Заготівлю проводили в листопаді 2002 року (в період припинення сокоруху). Зрізи робили за загальноприйнятими методиками [4, 6], для зрізів використовували мікроскопи МБР-1 (для розглядання) та МБІ-6 (для фотографування), гістохімічні реакції проводили за методом Бородіна (із хлоридом заліза (III)), методом Саньо (з біхроматом калію) [5], та зі зойно приготуванням 1 % розчином ваніліну в соляній кислоті [1].

© О.П. Хворост – к.фарм.н., П.В. Гречин, А.Г. Сербін – д.фарм.н., проф., 2003.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Покривною тканиною коренів в. клейкої є перидерма, до складу якої входять до 10-15 шарів червоно-коричневого корка (рис. 1б, 1). Корова паренхіма 10-шарова, складається зі щільно зімкнутих клітин з друзами та крохмальними зернами (рис. 1б, 2). Центральний циліндр починається кільцем механічних тканин, що представлені великими склерейдами, які чергуються з незначними ділянками луб'яних волокон. Кільце вторинної флоеми широке. Провідні елементи дрібноклітинні, розташовані окремими групами. Серцевинні промені у флоемі ліycopодібно розширені (рис. 1б, 5). Камбій слабо виражений. Ксилема представлена трахеальними елементами, серед яких між одно- та двошарових радіальних паренхімних тяжів розташовані пористі судини з облямованими порами. Залишок первинної ксилеми пентархного типу (див. рис. 1б, 8). Анатомічна будова кореня в. сірої відрізняється від кореня в. клейкої відсутністю ліycopодібних потовщень серцевинних променів у вторинній флоемі (рис. 1а, 5).

Бульбочки в. клейкої являють собою гроновидні утворення, які, в свою чергу, складаються з окремих сосочкоподібних виростів; влітку червоно-оранжевого, а в період збору – бурого кольору. Розвиток бульбочок починається з одного оранжевого сосочка, навколо якого розвивається ціле гроно бульбочок.

При анатомічному дослідженні бульбочок встановлено, що у центрі зберігається первинна будова кореня, тобто є пентархний радіальний пучок (рис. 2, 4-6), оточений ендодермою зі слабо помітними поясками Каспарі (рис. 2,

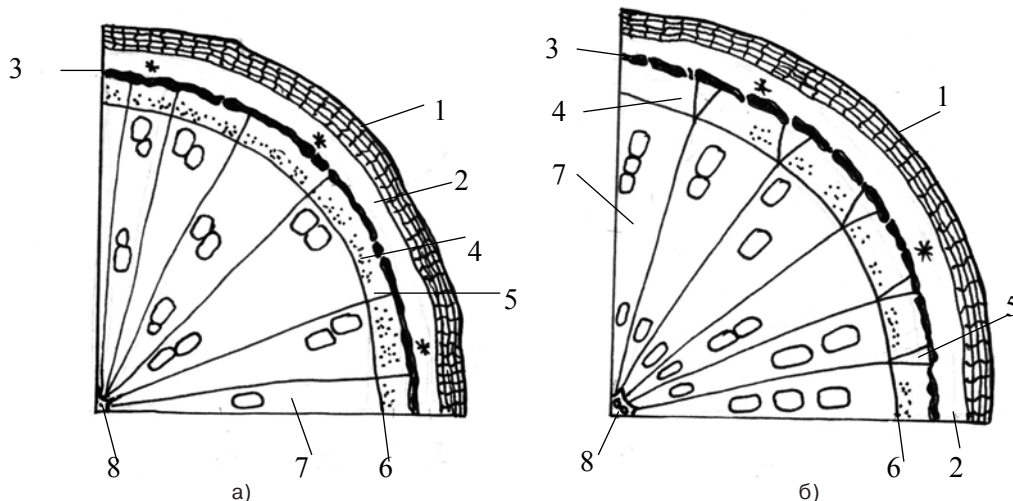


Рис. 1. Схема фрагмента поперечного зрізу кореня 1-го року життя: а) вільхи сірої; б) вільхи клейкої (збільшення $\times 120$); 1 – перидерма; 2 – кора паренхіма; 3 – перициклічне склеренхімне кільце; 4 – вторинна флоема; 5 – верхівки серцевинних променів; 6 – камбій; 7 – вторинна ксилема; 8 – залишок первинної ксилеми.

3). Основну масу бульбочок складає великоклітинна однорідна тонкостінна паренхіма (рис. 2, 2). Бульбочки вкриті п'ятишаровою перидермою (рис. 2, 1). Анатомічна будова бульбочок в. сірої тотожна бульбочкам в. клейкої.

Таким чином, загальними рисами анатомічної будови кореня обох видів вільхи є: 10-15 шаровий корок перидерми, однорідна щільно зімкнута великоклітинна паренхіма первинної кори з крохмальними зернами і друзами, суцільне склеренхімне кільце перициклічного походження, широке кільце вторинної флоєми, вузькі однорядні серцевинні промені ксилеми, пористі судини з облямованими порами, первинна ксилема поліархного типу.

Відмінними ознаками є різна форма верхівок серцевинних променів, для коренів вільхи клейкої характерне лікоподібне розширення їх верхівок.

Гістохімічний аналіз показав, що перидерма коренів та корневих бульбочок в. клейкої та в. сірої забарвлювалась в інтенсивно синьо-червоний колір (за методом Бородіна), що свідчило про накопичення значної кількості фенольних сполук. Позитивні наслідки реакції за методом Бородіна спостерігалися в окремих групах клітин мезодермальної паренхіми, ендодерми та провідних тканин радіального пучка корневих бульбочок обох видів вільхи. Гістохімічна реакція за методом Саньо свідчить, що в елементах вторинної флоєми локалізуються дубильні речовини. Реакція за цим методом була позитивною для вмісту окремих ділянок паренхіми первинної кори та провідних тканин пучка. Солянокислий розчин ваніліну забарвлював вміст окремих клітин корової паренхіми коренів обох видів вільхи та клітин

серцевинних променів у вишнево-червоний колір. Для корневих бульбочок ця реакція позитивна для перидерми та окремих клітин паренхіми. Це свідчить про наявність в цих тканинах сполук катехінової природи.

ВИСНОВКИ. 1. Вивчення анатомічної будови підземних органів в. клейкої та сірої дозволило виділити загальні та відмінні діагностичні риси. Загальними ознаками є 10-15-шаровий корок перидерми, однорідна щільно зімкнута крупноклітинна паренхіма первинної кори, суцільне одношарове склеренхімне кільце перициклічного походження, широке кільце вторинної флоєми розділене веретеноподібними серцевинними променями, в ксилемі вони вузькі однорядні, первинна ксилема поліархного типу. Відрізняються види вільхи за формою верхівок серцевинних променів.

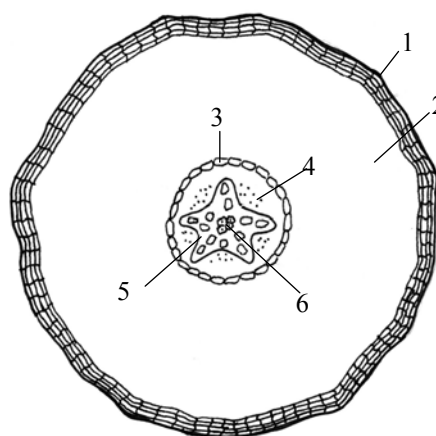


Рис. 2. Схема поперечного зрізу кореневої бульбочки вільхи клейкої (збільшення $\times 300$):

1 – перидерма; 2 – мезодерма; 3 – ендодерма; 4-6 – пентархний провідний пучок; 4 – первинна флоема; 5 – первинна ксилема; 6 – склеренхіма.

2. Проведено гістохімічне вивчення коренів та кореневих бульбочок в. клейкої та в. сірої. Встановлена локалізація фенольних речовин за методами Бородіна, Саньо та катехинів з розчином ваніліну в соляній кислоті. Фенольні

сполуки в значній кількості містяться в коровій частині, а катехіни містяться в окремих клітинах паренхіми коренів обох видів вільхи та кореневих бульбочок.

ЛІТЕРАТУРА

1. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. – М.: Высш. школа, 1974. – С. 22.
2. Никитин А.А., Пашкова И.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений. – Л.: Наука, 1982. – 768 с.
3. Практическая фитотерапия / Т.А. Виноградова, Б.Н. Гажев, В.М. Виноградов, В.К. Мартынов. – М.: ОЛМА-ПРЕСС; С.Пб.: Издательский Дом "Нева", "Валери СПД", 1998. – 640 с.
4. Тутаяк В.Х. Анатомия и морфология растений: Учебн. для сельскохозяйственных вузов. – М.: Высшая школа, 1972.
5. Фурст Г.П. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. – М.: Наука, 1979. – 154 с.
6. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР. – Л.: Наука, 1981. – 510 с.
7. Яковлева Л.В., Евдокимова О.С. Альтан – новый препарат для лікування виразкової хвороби шлунково-кишкового тракту // Вісник фармації. – 1993. – № 1-2. – С. 96-103.

АНАТОМО-ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ОЛЬХИ КЛЕЙКОЙ И СЕРОЙ

О.П. Хворост, П.В. Гречин, А.Г. Сербин
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Проведенное анатомо-гистохимическое изучение подземных органов ольхи клейкой и серой позволило установить диагностические признаки анатомического строения и особенности локализации фенольных соединений. Анатомическое строение корней о. серой отличается от корней о. клейкой отсутствием лейковидных утолщений сердцевинных лучей во вторичной флоэме. Общими признаками анатомического строения корней обеих видов ольхи являются 10-15-слойная эпидерма, однородная плотно сомкнутая крупноклеточная паренхима первичной коры, узкие однорядные сердцевинные лучи ксилемы, пористые сосуды с окаймленными порами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ольха клейкая, ольха серая, корни, клубеньки, анатомия и гистохимия.

ANATOMICAL AND HISTOCHEMICAL STUDY OF UNDERGROUND ORGANS OF ALDER CLUMMY AND GRAY

O.P. Hvorost, P.V. Grechyn, A.G. Serbin
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY

Resume

The conducted anatomical and histochemical study of underground organs of alder clummy and gray allowed to establish the diagnostic features of anatomic structure and peculiarities of localization of phenolic compounds. The anatomic structure of roots of alder gray differs from the roots of alder clummy by the absence of trapezoidal thickenings of medullary rays in the secondary phloem. The common features of anatomic structure of roots in both species of alder are the 10-15 layered epidermis, homogenous densely packed large-celled parenchyma of primary cortex, narrow uniseriate medullary rays of xylem, pitted vessels with bordered pits.

KEY WORDS: alder clummy, alder grey, roots, nodules, anatomy and histochemistry.

Отримано 06.03.2003 р.

Адреса для листування: П.В. Гречин, вул. Героїв Праці, 12-б, кв. 125, Харків, 61002, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ВАГІТНИХ З ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ

Л.В. Сазоненко, Я.М. Вітовський, Т.С. Брюзгіна, Г.М. Вретик
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Наведено результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного спектра ліпідів сироватки крові у вагітних з преєклампсією. Показано порушення метаболізму есенціальних жирних кислот як результат активації процесу ліпідної пероксидації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, жирні кислоти, процес пероксидації, сироватка крові, вагітність, преєклампсія.

ВСТУП. Проблема гестозів, зокрема преєклампсії, залишається однією з найбільш актуальних в акушерстві. Це пов'язано з їх частотою (11-16 %), а також з ускладненнями для вагітної та плода при даній патології. Гестози традиційно займають 2-3 місце в структурі причин материнської і перинатальної захворюваності й смертності та є одним з найнебезпечніших ускладнень вагітності й пологів. Перинатальна смертність при преєклампсії складає 10,0-30,0 %, а захворюваність – 463,0-780,0 ‰, що залежить від ступеня тяжкості [3].

Отримані в останні роки дані дозволили висунути концепцію про те, що преєклампсія є хворобою ендотелію. В ендотелії синтезується ряд медіаторів, що забезпечують авто- та паракринну регуляцію судинного тонуусу, а саме: простагліклін, тромбосани, лейкотрієни, ендотеліальний релаксуючий фактор (NO), ендотелін, ангіотензин-1 тощо.

У вагітних з преєклампсією відмічається порушення матричної та структурної функцій клітинних мембран, однією з причин чого є активація перекисного окиснення ліпідів як результат гіпоксії. Відображенням стану ендотелію є структуризація жирнокислотного складу мембран.

Важливим компонентом клітинних мембран є поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК). Вони містяться у фосфоліпідах мембран, під впливом різноманітних стимулів вивільняються з них та під дією фосфоліпаз метаболізують до своїх

© Л.В. Сазоненко, Я.М. Вітовський – к.мед.н., Т.С. Брюзгіна – к.тех.н., Г.М. Вретик, 2003.

кінцевих продуктів: тромбосанів, простагліандинів, лейкотрієнів [2].

Отже, порушення ендотелієм синтезу регуляторних медіаторів, що лежить в основі розвитку преєклампсії, залежить від структуризації жирних кислот (ЖК) у фосфоліпідах клітинних мембран. Дослідження змін ліпідного обміну при даній патології є важливим кроком до підвищення точності діагностики преєклампсії.

Метою роботи було дослідження змін жирнокислотного спектра ліпідів сироватки крові у вагітних з преєклампсією методом газорідної хроматографії (ГРХ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У дослідженні використовували сироватку крові вагітних, діагноз преєклампсії в яких було встановлено на основі попередніх клінічних, інструментальних, біохімічних методів. Визначали жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові, суму насичених і ненасичених ЖК, а також ПНЖК.

Основну групу склали 20 вагітних з преєклампсією. Контрольну групу – 20 жінок з фізіологічним перебігом вагітності. Для порівняння було відібрано групу з 20 здорових невагітних жінок тієї ж вікової категорії.

Для дослідження жирнокислотного спектра ліпідів вранці натще з кубітальної вени вагітної брали 5 мл крові, яку центрифугували для отримання сироватки.

Екстракцію ліпідів із сироватки проводили за відомим методом Фолча. Пробу сироватки в кількості 0,5-1,0 мл поміщали в пробірку з притертою пробкою ємністю 10 мл, додавали

5-7 мл суміші хлороформ/метанол (у співвідношенні 2:1) і тримали 30 хв у холодильнику. Для кращого розділення фаз додавали 1 мл дистильованої води. Далі відбирають хлороформну нижню фазу піпеткою Пастера. Для повної реакції етап екстракції повторюють двічі. Об'єднані хлороформні екстракти концентрують шляхом випарювання до сухості в потоці азоту при 45 °С на водяній бані.

Гідроліз та метилювання вищих ЖК ліпідів здійснювали за методом К.М. Синяка, який полягає в тому, що до сухого осаду ліпідів додавали 5 мл 1% H_2SO_4 в метанолі й переносили розчин у скляну ампулу ємністю 10 мл. Після випарювання проводили гідроліз і метилювання в термостаті при 85 °С протягом 20 хв.

Екстракцію метилюваних ЖК проводили двічі гексан-ефірною сумішшю (у співвідношенні 1:1) в кількості 5 мл. Для розділення фаз додавали 1 мл дистильованої води. Відбирали верхню фазу піпеткою Пастера. Об'єднані екстракти випарювали до сухості в потоці азоту при 45 °С на водяній бані. Сухий осад розчиняли у 40-50 мкл чистого гексану і вводять у випарник хроматографа в кількості 5 мкл.

Газохроматографічний аналіз спектра ЖК ліпідів здійснюють на газовому хроматографі серії Цвіт-500 в ізометричному режимі з полум'яно-іонізаційним детектором за таких умов: для визначення спектра ЖК ліпідів використовують скляну колонку (розміром 2 мх0,3 см), яка заповнена фазою 5 % ПЕГС на хроматоні N-AW-HMDS (зернистість – 0,125-0,160 мм), температура колонки – 180 °С, температура випарника – 250 °С, витрата азоту і водню – 45 мл/хв, повітря – 200 мм/год, швидкість діаграмної стрічки – 240 мм/год, чутливість шкали – 10^{-7} А, об'єм проби, що вводиться, – 3-5 мкл, тривалість аналізу – 20 хв.

Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів проводять методом нормування площ, визначають частки кислот у відсотках. Похибка визначення становить 10 %. Отримані дані досліджень

обробляють методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати газохроматографічного аналізу жирнокислотного спектра сироватки крові наведені в таблиці 1.

Як видно з таблиці, у жінок з фізіологічним перебігом вагітності спостерігаються зміни рівня ПНЖК за рахунок лінолевої та ейкозапентаєнової ЖК, що зумовлює достовірність підвищеного вмісту суми ПНЖК.

Така зміна метаболічних процесів у сироватці крові спостерігається за умов підвищеного навантаження на організм вагітної жінки порівняно з невагітними.

Розвиток прееклампсії вагітних супроводжується порушеннями метаболізму: активацією перекисного окиснення ліпідів та зниженням синтезу регуляторних медіаторів, що проявляється змінами спектра ЖК.

Порушення метаболізму зумовлене достовірним збільшенням насиченості ліпідного комплексу сироватки крові за рахунок підвищення вмісту пальмітинової ЖК, що свідчить про накопичення лізоформ лецитину, як наслідок активації процесу ліпідної пероксидації, а також зростанням рівня ПНЖК за рахунок лінолевої та ейкозаєнових ЖК.

Така зміна суми ПНЖК зумовлена порушенням метаболізму есенціальних ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів, що узгоджується з літературними даними [1].

ВИСНОВКИ. У вагітних з прееклампсією відмічається порушення метаболізму полієнових ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів як результат активації перекисного окиснення ліпідів за умов розвитку гіпоксії. Наведені характерні зміни ліпідного обміну у вагітних більш детально висвітлюють патогенез прееклампсії і можуть бути використані з метою ранньої діагностики даної патології.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад ліпідів сироватки крові, у %

Назва ЖК	Контроль сироватки	1 група – здорові вагітні	2 група – вагітні з прееклампсією
C16:0	41,9±0,9	46,4±1,9*	50,7±2,1*
C18:0	15,1±1,1	10,3±1,6*	10,0±0,9*
C18:1	24,2±0,6	15,9±1,3*	14,8±0,9*
C18:2	16,0±1,4	24,0±1,8	20,0±1,6
C20:3	-	0,50±0,05	0,50±0,05
C20:4	2,8±0,3	2,2±0,3	2,7±0,3
C20:5	-	0,70±0,05	1,3±0,1
Σ насич. ЖК	57,0±1,3	56,7±2,3	60,7±1,8*
Σ ненасич. ЖК	43,0±1,3	43,3±2,3	39,3±1,8*
Σ ПНЖК	18,8±1,4	27,4±2,1*	24,5±1,1*

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

ЛІТЕРАТУРА

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К., 2000. – 287 с.
2. Барабой В.А., Сутовой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Наукова думка, 1997. – Ч. 1. – 202 с.
3. Липко О.П. Сучасні уявлення про етіопатогенез пізнього гестозу // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1997. – № 3. – С. 92-94.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Л.В. Сазоненко, Я.В. Витовский, Т.С. Брюзгина, Г.М. Вретик
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

Приведены результаты газохроматографического анализа жирнокислотного спектра липидов сыворотки крови у беременных с преэклампсией. Показано нарушения метаболизма эссенциальных жирных кислот как результат активации процесса липидной пероксидации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, жирные кислоты, процесс пероксидации, сыворотка крови, беременность, преэклампсия.

THE INVESTIGATION OF THE FATTY-ACID SPECTRUM CHANGES IN PREECLAMPTIC PREGNANCIES

L.V. Sazonenko, Y.M. Vitovsky, T.S. Briuzgina, G.M. Vretik
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

Summary

The results of gas chromatography analysis of the fatty-acid spectrum changes in preeclamptic pregnancies were studied. It was shown that essential fatty-acid metabolism disorders are the consequence of increased lipid peroxidation.

KEY WORDS: lipids, fatty acids, lipid peroxidation, blood serum, pregnancy, preeclampsia.

Отримано 14.05.2003 р.

Адреса для листування: Л.В. Сазоненко, вул. А. Ахматової, 21, кв. 47, Київ, 02068, Україна.

ОПТИМІЗАЦІЯ СИНТЕЗУ ПЕРСПЕКТИВНИХ ПРОТИСУДОМНИХ РЕЧОВИН S(-)N,N'-ДИ-(1-ФЕНІЛЕТИЛ)-АМІДІВ АЛКІЛМАЛОНОВИХ КИСЛОТ

В.А. Георгіянц

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Здійснено синтез перспективних протисудомних речовин – S(-)N,N'-ди-(1-фенілетил)-амідів алкілмалонових кислот двома способами. Встановлено, що для зменшення кількості стадій синтезу та збільшення виходу оптимальним є алкілування S(-)N,N'-ди-(1-фенілетил)-аміду маленової кислоти. Використання м'яких умов реакції дозволяє уникнути рацемізації цільових продуктів. Будову сполук доведено методом спектроскопії ПМР, оптичну чистоту – поляриметрично.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: маленова кислота, похідні, синтез, протисудомні засоби, стереоселективні.

ВСТУП. Незважаючи на всі зусилля фармакологів та лікарів, епілепсія залишається одним з найбільш поширених і серйозних неврологічних захворювань та охоплює в середньому 1 % населення [8].

Лікарські препарати при тривалому застосуванні здатні контролювати напади парціальної епілепсії лише в 50 % хворих, а генералізованої – в 60-70 % [5]. Тільки в США понад 500000 пацієнтів мають такі неконтрольовані медикаментами напади [8]. Розвиток толерантності до терапевтичного ефекту протиепілептичних засобів є основною причиною розробки нових лікарських засобів для лікування судомного синдрому [6, 14]. Одним з перспективних напрямків є застосування політерапії, спрямованої на різні епілептогенні механізми [4], та заміна одного препарату іншим [11].

Учені багатьох країн світу прагнуть створення “ідеального” протисудомного засобу, який міг би захищати організм від виникнення судом незалежно від нейрональної патології [12], але, на жаль, досі такого препарату не знайдено. Однак у результаті досліджень у медичну практику європейських країн та Північної Америки запроваджено нове покоління антиконвульсантів, що належать до різних хімічних груп [10].

Дуже часто оптична активність є визначальним фактором при виконанні фармакологічної дії органічною речовиною. Хоча іноді й

рацемати є досить активними, при подальшому їх стереоселективному синтезі або розділенні на оптично активні антиподи виявляється здебільшого, що завданий ефект притаманний одному з них, зокрема деяким протисудомним речовинам [7, 9, 13]. Цікаво, що в деяких випадках активність належить S(-)-ізомерам [7], а в інших – їх R(+)-антиподам [9, 13].

При визначенні протисудомних властивостей арилалкіламідів маленової кислоти [1] було виявлено, що дуже високим є ефект рацемічного 1-фенілетиламіду. Відомо, що кожний з оптичних ізомерів робить свій внесок у фармакологічну активність рацемату, тому цікаво було вивчити активність кожного з оптичних антиподів. При цьому виявилось, що лівообертаючий ізомер є значно активнішим не тільки за свій антипод і рацемат, але й значно перевищує препарати порівняння [1]. З урахуванням цього було перспективним здійснити оптимальний синтез алкілпохідних S(-)N,N'-ди-(1-фенілетил)-аміду маленової кислоти.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Спектри ПМР знімали на приладі “Bruker WP-100 SY” (ФРН), розчинник – ДМСО-D₆, робоча частота – 100 МГц, хімічні зсуви наведено на шкалі δ відносно ТМС (внутрішній стандарт). Питоме обертання визначали на спектрополяриметри “Perkin-Elmer 141”, розчинник – диметилсульфоксид. Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

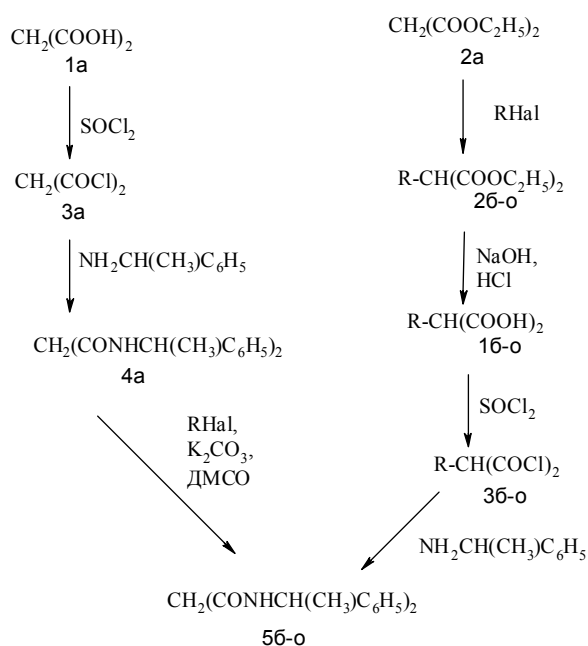
© В.А. Георгіянц, 2003.

S(-)N,N'-ди-(1-фенілетил)-амід метилмалонової кислоти (4a)

Спосіб А. До розчину 2,6 мл (0,02 моль) *S(-)*-1-фенілетиламіну і 2,8 мл (0,02 моль) триетиламіну в 15 мл хлористого метилену додають при охолодженні 1,23 г (0,01 моль) дихлорангідриду метилмалонової кислоти. Витримують 10 годин при кімнатній температурі. Додають 50 мл води та ретельно перемішують. Органічний шар відділяють, розчинник випаровують досуха. Вихід 2,98 г (92 %, в перерахунку на діетилмалонат – 49 %).

Спосіб Б. 3,1 г (0,01 моль) *S(-)N,N'*-ди-(1-фенілетил)-аміду малонової кислоти вміщують у колбу з хлоркальцієвим захистом, розчиняють в 30 мл диметилсульфоксиду, додають 4,14 г (0,03 моль) карбонату калію і ретельно перемішують, запобігаючи нагріванню суміші. Через 1 год до суміші додають 0,72 мл (0,012 моль) метил йодиду, нагрівають до 30 °С і витримують протягом доби. Реакційну суміш виливають у велику кількість води, підкисленої HCl. Осад відфільтровують, промивають водою, сушать. Вихід – 2,53 г (78 %, в перерахунку на малонову кислоту – 61 %).

Синтез здійснено відповідно до схеми:



РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Враховуючи те, що оптично активні реактиви є дуже чутливими до умов реакцій і за жорстких умов легко перетворюються на рацемати, необхідно було підібрати такий спосіб синтезу, що не передбачав би використання сильних основ чи кислот, нагрівання при високій температурі тощо. Це ускладнювало завдання, оскільки 1-фенілетиламін не є високореакційноздатним

внаслідок своєї складної просторової будови і вимагає при синтезі, наприклад амідів з діетилмалонатом, присутності основних катализаторів, зокрема метилату натрію. Тому для синтезу *S(-)N,N'*-ди-(1-фенілетил)-амідів малонової кислоти (4a) ми використовували дихлорангідрид малонової кислоти (3a) [1]. Реакцію проводили при охолодженні льодом, не допускаючи перегрівання суміші. Ми реалізували таким самим чином амідування хлорангідридів алкілмалонових кислот (3б-о), отриманих, відповідно, шляхом алкілювання діетилмалонату (2a) з його подальшим гідролізом та обробкою тіонілхлоридом (спосіб А). Але велика кількість попередніх стадій робить здавалось би задовільні виходи кінцевих продуктів доволі низькими в перерахунку на діетилмалонат (табл. 1). Тому нашою метою було спробувати оптимізувати методику отримання цільових продуктів.

З урахуванням попереднього досвіду вдалося алкілювання *N,N*-добензиламіду малонової кислоти алкілгалогенідами в ДМФА в присутності кристалічного луку [2] здавалось логічним та раціональним здійснити синтез *S(-)N,N'*-ди-(1-фенілетил)-амідів алкілмалонових кислот (4б-о) в аналогічних умовах. Але, на жаль, методику, розроблену нами для *N,N*-добензиламіду, не можна було використати, оскільки нагрівання суміші в присутності кристалічного гідроксиду натрію при температурі кипіння диметилформаміду може стати чинником рацемізації продуктів реакції. Тому ми застосовували для алкілювання методику, рекомендовану М.С. Зефіровим та співавт. [3] для циклоалкілювання малонового ефіру дигалогенопохідними, модифіковану нами з урахуванням властивостей вихідних речовин. Розчинником у цьому випадку був ДМСО, як основний катализатор ми використали карбонат калію. Така методика дозволяє проводити алкілювання при температурі, не вищій 40 °С, застосовувати м'які основи і є можливою за рахунок того, що *N,N'*-ди-(1-фенілетил)-амід малонової кислоти (4a) добре розчиняється в диметилсульфоксиді.

Завдяки використанню названої методики нам вдалося уникнути багаторазового синтезу алкілмалонових ефірів, їх гідролізу та синтезу хлорангідридів, втрачаючи певну кількість напівпродуктів на кожній стадії. Оскільки малонова кислота (1a) є доступним реагентом, а синтез її хлорангідриду (3a) не являє ніяких труднощів, *S(-)N,N'*-ди-(1-фенілетил)-амід малонової кислоти (4a) цим способом можна отримати з досить високим виходом [1]. А подальше алкілювання алкілгалогенідами вже

Таблиця 1 – S(-)N,N'-ди-(1-фенілетил)-аміди алкілмалонових кислот

Сполука	R	Температура плавлення	[α] ²² _D	Вихід, %	
				Спосіб А*	Спосіб Б**
4б	CH ₃	174-6	-74,1	49	61
4в	C ₂ H ₅	182-4	-74,6	46	66
4г	C ₃ H ₇	156-8	-71,2	47	63
4д	C ₄ H ₉	144-6	-66,8	44	60
4е	C ₄ H ₉ -ізо	206-8	-65,7	35	57
4є	C ₅ H ₁₁	192-4	-52,0	42	63
4ж	C ₅ H ₁₁ -ізо	202-4	-67,0	38	58
4з	C ₆ H ₁₃	190-2	-69,4	44	59
4и	C ₇ H ₁₅	168-70	-63,5	39	57
4і	C ₈ H ₁₇	138-40	-138,1	42	49
4ї	C ₉ H ₁₉	88-90	-54,8	40	54
4к	C ₁₀ H ₂₁	90-92	-48,5	41	53
4л	CH ₂ C ₆ H ₅	186-8	-38,3	46	59
4м	CH ₂ =CHCH ₂	158-60	-64,2	34	57
4н	C ₆ H ₅	188-90	-69,0	24	–
4о	NHCOCH ₃	180-82	-63,9	25	–

Примітка. * – у перерахунку на діетилмалонат;

** – у перерахунку на малонову кислоту.

залежить тільки від реакційної здатності алкілувального агента. Ми враховували, що в біполярних апротонних розчинниках, до групи яких належить ДМСО, найбільш реакційно-здатними є алкілхлориди, тому при можливості намагались використовувати саме їх. Але й у

випадку бромо- та йодопохідних за цих умов виходи цільових продуктів були задовільними (табл. 1).

Як видно з таблиці 1, використання наведеної методики (спосіб Б) дозволяє підвищити виходи цільових продуктів у перерахунку на

Таблиця 2 – Виходи, температура плавлення та дані спектрів ПМР дибензиламідів заміщених малонових кислот

Сполука	NH, 2H	Ar-H, 10H, д	CH-CH ₃ , 2H, дт	CH-CH ₃ , 6H, д	COCH-CO, 1H, т	Сигнали протонів інших замісників
4б	8,16 к	7,29	4,90	1,28 (9H, + CH-CH ₃)	3,25 к	–
4в	8,19 т	7,26	4,91	1,38; 1,32	3,04	1,72 (2H, к, CHCH ₂); 0,77 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4г	8,20 т	7,27	4,91	1,37; 1,31	3,14	1,69 (2H, к, CHCH ₂); 1,19 (2H, т, CH ₂ CH ₃); 0,84 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4д	8,17 к	7,27	4,91	1,36; 1,32	3,16	1,74 (2H, к, CHCH ₂); 1,18 (4H, м, (CH ₂) ₂); 0,83 (3H, т, CH ₃)
4е	8,15 к	7,27	4,89	1,35; 1,30	3,24	1,78 (2H, к, CHCH ₂); 1,24 (18H, с, (CH ₂) ₉); 0,86 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4є	8,19 к	7,25	4,91	1,37; 1,31	3,12	1,67 (2H, д, CHCH ₂); 1,19 (6H, с, (CH ₂) ₃ CH ₃); 0,82 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4ж	8,20 т	7,28	4,90	1,32; 1,25	3,08	1,70 (2H, м, CHCH ₂); 1,19 (3H, м, CH ₂ CH(CH ₃) ₂); 0,80 (6H, т, 2xCH ₃)
4з	8,20 т	7,29	4,92	1,36; 1,27	3,11	1,71 (2H, м, CHCH ₂); 1,19 (8H, с, (CH ₂) ₄ CH ₃); 0,84 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4и	8,18 т	7,29	4,90	1,35; 1,27	3,11	1,67 (2H, м, CHCH ₂); 1,20 (10H, с, (CH ₂) ₅ CH ₃); 0,85 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4і	8,18 т	7,27	4,90	1,36; 1,30	3,12	1,69 (2H, м, CHCH ₂); 1,20 (12H, с, (CH ₂) ₆ CH ₃); 0,85 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4ї	8,18 к	7,27	4,90	1,37; 1,29	3,11	1,68 (2H, м, CHCH ₂); 1,22 (14H, с, (CH ₂) ₇ CH ₃); 0,85 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4к	8,23 к	7,27	4,89	1,37; 1,30	3,12	1,67 (2H, м, CHCH ₂); 1,23 (16H, с, (CH ₂) ₈ CH ₃); 0,86 (3H, т, CH ₂ CH ₃)
4л	8,18 к	7,24, 15H	4,88	1,32; 1,26	3,50	3,03 (2H, д, CH ₂ Ph)
4м	8,19 к	7,29	4,96, 4H (+CH ₂)	1,38; 1,32	3,22	5,66 (1H, к, -CH=); 2,49 (2H, т, CHCH ₂)
4н	8,82 д	7,28, 15H	4,89	1,38; 1,30	4,65	–
4о	8,35 к	7,29	4,89	1,40; 1,31	5,02	8,09 (1H, д, NHCOCH ₃); 1,91 (3H, с, NHCOCH ₃)

вихідну речовину, але ці виходи є значно нижчими, ніж при алкілюванні N,N'-добензиламідів [2]. Таке явище можна пояснити складною просторовою будовою вихідного діаміду і, відповідно, просторовими утрудненнями, які виникають при його реакціях.

Сполуки 4н та 4о отримано тільки способом А, оскільки пряме введення таких замісників в активну метиленову групу вимагає додаткових умов та рідких реагентів.

Як видно з таблиці 1, всі синтезовані речовини є оптично активними і зберегли здатність вихідного аміну обертати площину поляризації поляризованого світла вліво. Слід відзначити, що питоме обертання для різних сполук неоднакове, що пояснюється впливом замісників.

Для доведення будови синтезованих речовин ми використовували спектри ПМР, які довели присутність у синтезованих речовинах

1-фенілетиламіну в амідній функції та відповідних замісників у метиленовій групі (табл. 2).

ВИСНОВКИ. 1. Здійснено синтез S(-)-N,N'-ди-(1-фенілетил-)-амідів алкілмалонових кислот двома способами – ацилюванням S(-)-(1-фенілетил-)-аміну дихлорангідридами заміщених малонових кислот та алкілюванням S(-)-N,N'-ди-(1-фенілетил-)-аміду малонової кислоти алкілгалогенідами.

2. Алкілювання дозволило отримати цільові продукти з більш високими виходами в перерахунку на вихідні продукти завдяки зменшенню кількості стадій синтезу. Використання м'яких умов допомагає уникнути рацемізації синтезованих речовин.

3. Будову синтезованих речовин доведено методом спектроскопії ПМР, оптичну активність – поляриметрично.

ЛІТЕРАТУРА

1. Георгіянц В.А. Арилалкіламіди заміщених малонових кислот – перспективні антиконвульсанти // В кн.: Наукові основи розробки лікарських препаратів. – Х.: Основа, 1998. – С. 307-310.

2. Георгіянц В.А. Синтез нових добензиламідів алкілмалонових кислот та їх протисудомна активність // Фізіологічно активні речовини. – 1999. – № 1 (27). – С. 29-32.

3. Зефіров Н.С., Кузнецова Т.С., Кожушков С.И. и др. Циклоалкилирование α,ω -дибромидами соединений, содержащих активированную метиленовую группу, как метод синтеза 1,1-дизамещенных циклоалканов // Журн. Орган. Химии. – 1983. – **19**, № 3. – С. 541-548.

4. Czuczwar S.J., Borowicz K.K. Polytherapy in epilepsy: the experimental evidence // *Epilepsy Res.* – 2002. – **52**, № 1. – P. 25-33.

5. Duncan J.S. The promise of new antiepileptic drugs // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2002. – **53**, № 2. – P. 123-131.

6. Hovinga C.A. Novel anticonvulsant medications in development // *Expert Opin. Investig. Drugs.* – 2002. – **11**, № 10. – P. 1387-1406.

7. Katayama S., Ae N., Kodo T. et al. Tricyclic Indole-2-carboxylic Acids: Highly in Vivo Active and Selective Antagonists for the Glycine Binding Site of

the NMDA Receptor // *J. Med. Chem.* – 2003. – **46**, № 5. – P. 691-701.

8. Nassiri R., Stelmasiak Z. Pharmacotherapy of epilepsy // *Neurol. Neurochir. Pol.* – 2000. – **34**, № 8. – P. 47-58.

9. Pedregal C., Prowse W. Stereoselective synthesis of 2-amino-3-fluoro bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid // *Bioorg. Med. Chem.* – 2002. – **10**, № 2. – P. 433-436.

10. Perucca E. Marketed new antiepileptic drugs: are they better than old-generation agents? // *Ther. Drug. Monit.* – 2002. – **24**, № 1. – P. 74-80.

11. Perucca E. Overtreatment in epilepsy: adverse consequences and mechanisms // *Epilepsy Res.* – 2002. – **52**, № 1. – P. 25-33.

12. Selderpalm B. Anticonvulsants: aspects of their mechanisms of action // *Eur. J. Pain.* – 2002. – **6**, Suppl. A. – P. 3-9.

13. Takemoto M., Tanaka K. Synthesis of optically active α -phenylpyridylmethanols by *Camellia sinensis* cell culture // *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic.* – 2001. – **15**, № 4-6. – P. 173-176.

14. Zhang Z.J., Russell S., Obeng K. et al. Co-administration of gabapentin or MK-801 with lamotrigine slows tolerance to its anticonvulsant effects on kindled seizures // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2003. – **74**, № 3. – P. 565-571.

**ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРОТИВОСУДОРОЖНЫХ
ВЕЩЕСТВ – S(-)N,N'-ДИ-(1-ФЕНИЛЭТИЛ)-АМИДОВ
АЛКИЛМАЛОНОВЫХ КИСЛОТ**

В.А. Георгианц

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Осуществлен синтез перспективных противосудорожных веществ – S(-) N,N'-ди-(1-фенилэтил)-амидов алкилмалоновых кислот двумя способами. Установлено, что для уменьшения количества стадий синтеза и увеличения выхода оптимальным является алкилирование S(-)N,N'-ди-(1-фенилэтил)-амида малоновой кислоты. Использование мягких условий реакции позволяет избежать рацемизации целевых продуктов. Строение соединений доказано методом спектроскопии ПМР, оптическую чистоту – поляриметрически.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **малоновая кислота, производные, синтез, противосудорожные средства, стереоселективные.**

**OPTIMISATION OF SYNTHESIS OF PROSPECTIVE ANTICONVULSANT
SUBSTANCES – S(-)N,N'-DI-(1-PHENYLETHYL)-AMIDES
OF ALKYL MALONIC ACIDS**

V.A. Georgiants

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

Summary

The synthesis of prospective anticonvulsant substances – S(-)N,N'-di-(1-phenylethyl)-amides of alkyl-malonic acids was carried out by two methods. It was discovered, that alkylation of N,N'-di-(1-phenylethyl)-amide of malonic acids is optimal for minimizing the number of synthesis stages and higher yields. Soft conditions of reaction allow to avoid the racemisation of products. Structure of compounds synthesized was proved by NMR spectroscopy, optical clarity – by polarimetry.

KEY WORDS: **malonic acid, derivatives, synthesis, anticonvulsants, stereoselective.**

Отримано 15.04.2003 р.

Адреса для листування: В.А. Георгіянци, Україна.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМОКСИЦИЛІНУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

С.О. Васюк, А.С. Коржова

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Запропоновані спектрофотометричні способи кількісного визначення амоксициліну на основі реакції з 1,3-диметилалоксаном та діазолем червоним 2Ж у субстанції та готових лікарських формах. Способи характеризуються високою чутливістю та простотою виконання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: амоксицилін, спектрофотометрія, 1,3-диметилалоксан, діазоль червоний 2Ж.

ВСТУП. Поширене в останній час застосування антибіотиків вимагає наявності чутливих та простих у виконанні методів кількісного контролю при їх виробництві. Метою нашої роботи було створення таких методів фармацевтичного аналізу для амоксициліну – антибіотика широкого спектра дії з групи напівсинтетичних пеніцилінів, активного щодо грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів [3]. Фармацевтичною промисловістю він випускається у формі таблеток по 250 та 500 мг діючої речовини, розчинних таблеток по 125, 250, 500 та 1000 мг діючої речовини, капсул по 250 та 500 мг діючої речовини, порошку для приготування суспензії по 125 та 250 мг діючої речовини в 5 мл суспензії.

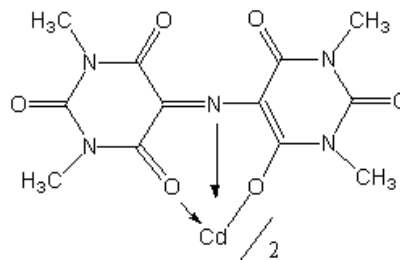
Згідно з Державною Фармакопеєю України, амоксицилін у субстанції визначають методом рідинної хроматографії [2]. Незважаючи на позитивні сторони цього методу, він не може бути широко застосованим, бо не всі лабораторії з контролю за якістю ліків мають рідинний хроматограф з УФ-детектором. В літературі описано визначення амоксициліну методами рідинної хроматографії [6, 9, 10, 11] та спектрофотометрії у видимій ділянці спектра на підставі його реакції з хлоранілом в середовищі ацетонітрилу [5], N-бромосукцинимідом або N-хлоросукцинимідом в середовищі метанолу [8], нітратом нікелю в середовищі ДМСО [7]. Незважаючи на деякі позитивні характеристики описаних методів, розробка нових, більш чутливих і простих у виконанні способів визначення амоксициліну є доцільною.

Метою нашої роботи були вивчення умов проведення реакції амоксициліну з 1,3-диметилалоксаном та п-нітродіазобензолу борфторидом (діазолем червоним 2Ж) та розробка на їх основі методів кількісного визначення амоксициліну в лікарських формах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використовували реактиви та розчинники, що відповідали вимогам аналітико-нормативної документації: 1,3-диметилалоксан (ТУ 29-2002) кваліфікації чда, діазоль червоний 2Ж (ТУ 6-09-07-50) кваліфікації чда, воду дистильовану (Державна Фармакопея України, 1095504), карбонат натрію (Державна Фармакопея України, 1079200), диметилформамід (Державна Фармакопея України, 1030300).

Експериментально нами було встановлено, що амоксицилін реагує з 1,3-диметилалоксаном у середовищі диметилформаміду (ДМФА) при нагріванні в киплячому водяному нагрівачі протягом 5 хвилин [11]. Для підвищення чутливості реакції продукт переводять у внутрішньокмлексну сполуку з солями Cd^{2+} . При цьому утворюється забарвлена в оранжевий колір стійка сполука з максимумом поглинання при 485 нм (рис.1).

Реакція перебігає, на наш погляд, аналогічно мурексидній реакції амінокислот з нінгідрином [4], і кінцева сполука має, імовірно, таку будову:



© С.О. Васюк – к.фарм.н., А.С. Коржова, 2003.

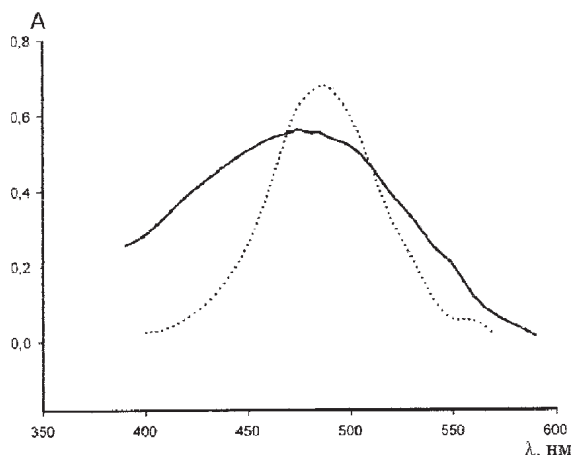
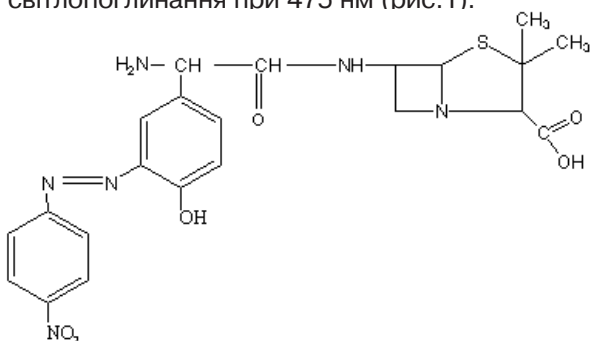


Рис. 1. Спектр поглинання продукту реакції амоксициліну з 1,3-диметилалоксаном і Cd^{2+} (1) та діазолем червоним 2Ж (2).

Оптична густина не змінюється протягом доби.

Реакція азосполучення амоксициліну з діазолем червоним 2Ж протікає при кімнатній температурі у водному середовищі при додаванні розчину карбонату натрію з утворенням продукту червоного кольору з максимумом світлопоглинання при 475 нм (рис. 1):



Відкривальний мінімум для препарату, розрахований по загальновідомій методиці [1], становить по реакції з 1,3-диметилалоксаном 1,18 мкг/мл, по реакції з діазолем червоним 2Ж – 0,712 мкг/мл.

Підпорядкування закону світлопоглинання знаходиться в межах концентрації амоксициліну 1,6-2,4 мг/100 мл по реакції з 1,3-диметилалоксаном та 0,6-1,6 мг/100 мл по реакції з діазолем червоним 2Ж.

Розрахунок процентного вмісту амоксициліну для субстанції та вмісту у грамах в готових лікарських формах проводили методом стандарту, використовуючи розчин амоксициліну, субстанція якого відповідає вимогам Державної Фармакопеї України (стаття "Амоксицилін", с. 315 – 318).

Кількісне визначення амоксициліну по реакції з 1,3-диметилалоксаном.

Методика кількісного визначення амоксициліну в субстанції. Точну наважку (біля

0,0500 г) розчиняють у ДМФА в мірній колбі місткістю 100 мл при нагріванні, доводять ДМФА до позначки, ретельно перемішують. До 1 мл одержаного розчину додають 2 мл свіжовиготовленого 5% розчину 1,3-диметилалоксану в ДМФА і нагрівають в киплячому водному огрівнику 5 хвилин. Після охолодження до проби додають 1 мл 2% водного розчину CdCl_2 , кількісно переносять у мірну колбу на 25 мл та доводять до позначки ДМФА. Паралельно проводять пробу з 1 мл стандартного розчину амоксициліну, для приготування якого 0,0500 г амоксициліну розчиняють у ДМФА в мірній колбі місткістю 100 мл, доводять ДМФА до позначки, ретельно перемішують.

Оптичну густина досліджуваного і стандартного розчинів вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 485 нм в кюветі з товщиною шару 1 см, використовуючи в якості розчину порівняння розчин, який не містить речовини, що визначається.

Розрахунок процентного вмісту амоксициліну проводять за формулою:

$$C\% = \frac{A \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 25}{A_0 \cdot a \cdot l}, \text{ де}$$

A – оптична густина досліджуваного розчину,

A_0 – оптична густина стандартного розчину,

C_0 – концентрація стандартного спектрофотометруемого розчину (0,0020 г в 100 мл),

a – наважка, г

l – товщина шару, см.

Результати кількісного визначення амоксициліну в субстанції наведено в табл. 1.

Методика кількісного визначення амоксициліну в готових лікарських формах. Точну наважку лікарської форми (наважки наведені в табл. 2) розчиняють у ДМФА в мірній колбі на 100 мл при нагріванні, доводять до позначки ДМФА, ретельно перемішують і далі поступають як в методиці "кількісне визначення амоксициліну в субстанції" починаючи зі слів: "До 1 мл одержаного розчину...". Розрахунок вмісту амоксициліну в г в лікарських формах проводять за формулою:

$$X = \frac{A \cdot C_0 \cdot V_k \cdot 25 \cdot P_{\text{сер}}}{A_0 \cdot a \cdot l \cdot 100}, \text{ де}$$

a – наважка;

V_k – об'єм колби;

$P_{\text{сер}}$ – середня маса лікарської форми.

Результати кількісного визначення амоксициліну в лікарських формах наведені в табл. 2.

Визначенню амоксициліну за реакцією з 1,3-диметилалоксаном в умовах, наведених

Таблиця 1 – Результати кількісного визначення амоксициліну в субстанції n=6, P=0,95

Наважка, г	A	A ₀	C%	Метрологічні характеристики
По реакції з 1,3-диметилалоксаном				
0,0476	0,743	0,781	99,93	$\bar{X}=99,80$
0,0542	0,840		99,22	$S^2 = 0,2031$
0,0560	0,869		99,46	$S_{\bar{X}} = 0,4506$
0,0412	0,645		100,2	$S = 0,1839$
0,0486	0,762		100,4	$\Delta \bar{X} = 1,158$
0,0408	0,635		99,62	$\varepsilon = 1,160$
По реакції з діазолом червоним 2Ж				
0,0177	0,474	0,533	100,5	$\bar{X} = 100,0$
0,0377	0,997		99,23	$S^2 = 0,2633$
0,0206	0,552		100,5	$S_{\bar{X}} = 0,5132$
0,0284	0,756		99,89	$S_{\bar{X}} = 0,2095$
0,0313	0,837		100,3	$\Delta \bar{X} = 0,5384$
0,0273	0,725		99,65	$\varepsilon = 1,319$

Таблиця 2 – Результати кількісного визначення амоксициліну в готових лікарських формах за реакцією з 1,3-диметилалоксаном

Лікарська форма	Наважка, г	Метрологічні характеристики				
		\bar{X}	$S^2 \cdot 10^{-5}$	$S \cdot 10^{-3}$	$S_{\bar{X}} \cdot 10^{-3}$	$\Delta \bar{X} \cdot 10^{-2}$
1. "Амоксил-КМП" амоксициліну 0,25 /0,3823 серія 110902	0,0607-0,0911	0,2526	4,381	6,6192	2,701	1,701
2. "Амоксил-КМП" амоксициліну 0,5 /0,7600 серія 10103	0,0605-0,0907	0,5010	3,146	5,6090	2,2891	1,442
3. Хіконцил 250 мг капсули /0,3000 серія 7312	0,0480-0,0720	0,2505	2,381	4,879	1,992	1,254
4. Хіконцил 500 мг капсули/0,5779 серія 7862	0,0462-0,0694	0,5094	11,50	10,78	4,373	2,752
5. Флемоксин солютаб 125 мг/0,2445 серія 01/15/54	0,0782-0,1174	0,1255	0,5814	2,411	0,9841	0,6196
6. Флемоксин солютаб 250 мг/0,4779 серія 02E 18/64	0,0765-0,1147	0,2513	3,611	6,009	2,453	1,544
7. Флемоксин солютаб 500 мг/0,9602 серія 02H 03/54	0,0768-0,1152	0,5048	8,259	9,088	3,709	2,336
8. Флемоксин солютаб 1000 мг/1,917 серія 01K 07/09	0,0767-0,1150	1,032	15,94	12,62	5,153	3,243
9. Суспензія "Хіконцил" амоксициліну 125 мг/5 мл серія 8757	1 мл	0,1243	0,5913	2,432	0,9926	6,250
10. Суспензія "Грамокс-Д" амоксициліну 250 мг/5 мл серія 1051202	1 мл	0,2578	2,225	4,717	1,925	1,212

вище, не заважають допоміжні речовини, що входять до складу лікарських форм.

Кількісне визначення амоксициліну за реакцією з діазолом червоним 2Ж.

Методика кількісного визначення амоксициліну у субстанції. Точну наважку (0,0150-0,0400 г) розчиняють у дистильованій воді у мірній колбі місткістю 100 мл, якщо необхідно, при нагріванні, доводять водою до позначки, ретельно перемішують. 1 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу місткістю 25 мл. додають 5 мл насиченого (близько 1 %) свіжовиготовленого водного розчину діазолу черво-

ного 2Ж, 1 мл 10 % розчину карбонату натрію та доводять водою до позначки. Паралельно проводять реакцію з 1 мл стандартного розчину амоксициліну, для приготування якого розчиняють 0,0200 г амоксициліну в 100 мл води ($C_0=0,0008$ г/100 мл). Вимірюють оптичну густину досліджуваного та стандартного розчинів на фоні контролю, що не містить досліджуваної речовини, за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 475 нм. Розрахунок процентного вмісту проводили за типовою формулою, яка наведена вище. Результати кількісного вмісту амоксициліну у субстанції наведені в табл. 1.

Методика кількісного вмісту амоксициліну в готових лікарських формах. При визначенні амоксициліну в таблетках та капсулах точну наважку (наведена в табл.3) розтертої таблеткової маси вміщують у мірну колбу на 100 мл, розчиняють без нагрівання у воді, доводять цим же розчинником до мітки, ретельно перемішують. Одержаний розчин фільтрують, перші порції фільтрату відкидають,

а з наступних беруть по 1 мл і аналізують за методикою кількісного визначення амоксициліну у субстанції. При аналізі суспензій наважку лікарської форми розчиняють у мірній колбі місткістю 500 мл ("Хіконцил") або 1000 мл ("Грамокс"). Розрахунок грамового вмісту проводять за формулою, що наведена вище. Результати кількісного визначення амоксициліну в лікарських формах наведені в табл. 3.

Таблиця 3 – Результати кількісного визначення амоксициліну в готових лікарських формах за реакцією з діазолом червоним 2Ж

Лікарська форма	Наважка, г	Метрологічні характеристики				
		\bar{X}	$S^2 \cdot 10^{-5}$	$S \cdot 10^{-3}$	$S_{\bar{X}} \cdot 10^{-3}$	$\Delta \bar{X} \cdot 10^{-2}$
1. Хіконцил 250 мг капсули/ 0,3000 серія 7312	0,0180-0,0480	0,2496	3,140	5,605	2,289	0,5882
2. Хіконцил 500 мг капсули/ 0,5779 серія 7862	0,0173-0,0462	0,5074	7,130	8,443	3,448	0,8860
3. Флемоксин солютаб 125 мг/ 0,2445 серія 01/15/54	0,0294-0,0784	0,1248	0,5610	2,368	0,9669	0,2485
4. Флемоксин солютаб 250 мг/ 0,4779 серія 02E 18/64	0,0287-0,0765	0,2468	1,710	4,140	1,690	0,4344
5. Флемоксин солютаб 500 мг/ 0,9602 серія 02 Н 03/54	0,0288-0,0768	0,5142	16,40	12,82	5,235	1,345
6. Флемоксин солютаб 1000 мг/ 0,917 серія 01 К 07/09	0,0285-0,0760	1,007	5,500	7,414	3,027	0,7780
7. Суспензія "Хіконцил" амоксициліну 125 мг/ 5 мл серія 8757	5 мл	0,1282	0,2170	1,472	0,6002	0,1543
8. Суспензія "Грамокс-Д" амоксициліну 250 мг/ 5 мл серія 1051202	5 мл	0,2588	1,020	3,194	1,304	0,3352

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиць, результати кількісного визначення характеризуються досить великою точністю, а методики визначення прості і не вимагають затрат часу.

ВИСНОВКИ. 1. Запропоновані спектрофотометричні способи визначення амоксициліну за реакціями з 1,3-диметилалоксаном та

діазолом червоним 2Ж.

2. Опрацьовані методики застосовані для визначення амоксициліну у субстанції та готових лікарських формах.

3. Запропоновані методики характеризуються високою чутливістю, простотою виконання і можуть бути застосовані в лабораторіях Державної інспекції контролю за якістю ліків та ВТК хіміко-фармацевтичних заводів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. – 5-е изд.-Л.: Химия, 1986. – 432 с.
 2. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – С. 315-318.
 3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х т. – Харьков: Торсинг, 1998. – Т. 2. – С. 244.
 4. Ошкая В.П. Нинридриновые реакции. – Рига: Зинатне, 1974. – 176 с.
 5. Amin A.S. Modified spectrophotometric method for the determination of some important antibiotics through charge-transfer complexation reaction with cloranil // Spectrosc. Lett. – 1996. – **29**, № 6. – P. 1003-1011.

6. Muth P., Metz R., Beck H. et al. Improved high-performance liquid-chromatographic determination of amoxicillin in human plasma by means of column switching // J. Chromatogr. A. – 1996. – **729**, № 1. – P. 259-266.
 7. Pargaonkar G.G., Kaskhedikar S.G. Spectrophotometric estimation of amoxycillin and carbocysteine in single dosage forms by complexation with nickel(II) // Indian Drugs. – 1994. – **31**, №12. – P. 590-592.
 8. Saleh G.A. Two selective spectrophotometric methods for the determination of amoxicillin and cefadroxil // Analyst. – 1996. – **121**, № 5. – P. 641-645.
 9. Straub R.F., Voyksner R.D. Determination of

penicillin G, ampicillin, amoxycillin, cloxacillin and cephalirin [cefapirin] by high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry // J. Chromatogr. – 1993. – **647**, № 1. – P. 167-181.

10. Valvo L., Alimonti S., Alimenti R. et al. Investigation of a new amoxicillin sodium impurity unstable in

solution // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1997. – **15**, № 4. – P. 487-493.

11. Zhu Y., Roets E., Moreno M.L. et al. Evaluation of LC methods for the separation of amoxycillin and its related substances // Liq. Chromatogr. Relat. Technol. – 1996. – **19**, № 12. – P. 1893-1908.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМОКСИЦИЛЛИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

А.С. Коржова, С.О. Васюк

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Разработаны способы количественного спектрофотометрического определения амоксициллина в субстанции и 10-и готовых лекарственных формах, в основе которых лежат реакции взаимодействия препарата с 1,3-диметилаллоксаном в среде диметилформамида, диазолом красным 2Ж в присутствии карбоната натрия. Предложенные способы характеризуются высокой чувствительностью и простотой выполнения и могут найти применение в лабораториях Государственной инспекции по контролю качества лекарств и ОТК химико-фармацевтических предприятий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **амоксициллин, спектрофотометрия, 1,3-диметилаллоксан, диазол красный 2Ж.**

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF AMOXYCILLIN IN DRUGS

S.O.Vasjuk, A.S.Korzhova

ZAPORIZHZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The methods of quantitative spectrophotometric identification of amoxycillin in substance and in ten drugs are worked out. These methods are based on the reaction of interaction of a preparation with 1,3-dimethylalloxan in dimethylformamide medium and diasol red 2G in presence of sodium carbonate. This method are highly sensitive and easy executable and can be used in the laboratories of Government drug quality control inspection and production control departments of chemical-pharmaceutical enterprises.

KEY WORDS: **amoxycillin, spectrophotometry, 1,3-dimethylalloxan, diasol red 2G.**

Отримано 25.06.2003 р.

Адреса для листування: С.О. Васюк, вул. Героїв Сталінграда, 22, кв. 57, Запоріжжя, 69095, Україна.



МИХАЙЛО ІВАНОВИЧ КАЛИНСЬКИЙ

опублікував 8 монографій, а загалом має понад 200 публікацій. Монографія “Внутрішньоклітинна регуляція серцевого та скелетних м’язів” була видана у США в 1995 р.

М.І. Калинський був членом центральної ради Українського біохімічного товариства, комісії з біохімії Національної академії наук України, членом вченої ради в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна та залишається членом редакційних рад 3-х наукових журналів в Україні та журналу “Medicina Sportiva” у Польщі (Краків). На пленарних засіданнях міжнародних симпозіумів зі спортивної біохімії, спортивної медицини та спортивного хачування, що відбулися у США та Європі у 1988, 1989, 1993, 2000, 2001, 2003 рр., професор був головним доповідачем. З 1998 р. М.І. Калинський є почесним членом найбільшої у світі асоціації спортивних медиків – ACSM (Американського коледжу спортивної медицини).

В Україні професор Калинський опублікував 4 монографії та 2 підручники з біохімії. Під його керівництвом було захищено 7 кандидатських дисертацій. В останні роки Михайло Іванович опублікував в американських та європейських наукових журналах ряд статей про світові пріоритети української біохімії. Він є членом Українського біохімічного товариства, доповідав на Українському біохімічному конгресі, що відбувся у 2002 р. в Чернівцях.

Професор Калинський продовжує свою педагогічну та наукову діяльність у США, де є професором відділу спортивної фізіології та біохімії у Кентському університеті (м. Кент, Огайо). Він є членом президії Українсько-Американської асоціації університетських професорів та Наукового товариства ім. Т.Г. Шевченка у Нью-Йорку.

21 листопада 2003 р. Михайлові Івановичу Калинському, члену редакційної ради журналу “Медична хімія”, виповнюється 60 років. Професор М.І. Калинський народився на Херсонщині. Закінчив Київський державний інститут фізичної культури та Київський державний університет ім. Т.Г. Шевченка. Захистив дисертацію на здобуття ступеня кандидата біологічних наук на кафедрі біохімії та фармакології медичного факультету Ужгородського університету, докторську дисертацію на тему “Аденілатциклазна система скелетних м’язів і серця при м’язовій діяльності” в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна (Київ, 1986 р.). У Київському інституті фізичної культури в 1961-1990 рр. пройшов шлях від студента до професора, завідувача кафедри біохімії та проректора з наукової роботи.

Професор Калинський є вченим із світовим ім’ям у галузі спортивної біохімії. Відомі його дослідження вторинних посередників, обміну цАМФ, властивостей цАМФ-залежних протейніназ скелетних та серцевого м’язів. Він

Доктор медичних наук, професор Я.І. Гонський